



**Universidade Federal do Paraná**  
**Campus Centro Politécnico**  
**Setor de Ciências Biológicas**



**Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação**

**THAIS REGINA N. COSTA**

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *PHYSALAEMUS*  
*SPINIGER* (ANURA, LEIUPERIDAE)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação, do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Paraná.

**Orientador:** Prof. Dr. Luís Felipe Toledo

Curitiba  
2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

# Conteúdo

Agradecimentos.....	4
Introdução .....	6
O Gênero <i>Physalaemus</i> .....	8
A espécie <i>Physalaemus spiniger</i> .....	10
Referências.....	13
Informações editoriais.....	26
Capítulo 1 - <i>Physalaemus spiniger</i> (Anura: Leiuperidae): Uma rãzinha com repertório vocal acrobático.....	28
Abstract.....	29
Resumo.....	30
Introdução.....	31
Métodos.....	33
Área de estudo.....	33
Resultados.....	36
Canto de anúncio (Ca).....	37
Canto territorial (Ct).....	38
Canto de briga (Cb).....	39
Canto de soltura (Cs).....	39
Canto de corte (Cc).....	40
Grito de agonia.....	40
Comparação entre as notas.....	40
Resultados de Correlação.....	41
Combinação de notas em cantos compostos.....	42
Discussão.....	42
Referências.....	50
Legenda das Figuras.....	62

Capítulo 2 - Variação morfológica de populações de <i>Physalaemus spiniger</i> (Anura, Leiuperidae)	66
Abstract .....	67
Resumo.....	68
Introdução.....	70
Material e Métodos.....	73
Amostra .....	73
Populações selecionadas.....	74
Análise estatística.....	75
Resultados .....	76
Verificação da acurácia da medição.....	76
Análise das variáveis morfológicas.....	76
Análise dos fatores climáticos.....	79
Discussão .....	80
Referências.....	84
Legenda das figuras:.....	95
Anexo .....	104
Capítulo 3 - Biologia reprodutiva de <i>Physalaemus spiniger</i> (Anura, Leiuperidae), com a descrição de um novo modo reprodutivo para o gênero .....	105
Abstract: .....	106
Resumo:.....	106
Material e Métodos.....	109
Área de estudo .....	109
Informações climáticas.....	110
Observações em campo .....	110
Observações em laboratório.....	111
Análise estatística.....	112
Resultados .....	112
Dados climáticos.....	112
Atividade de vocalização .....	112
Seleção sexual .....	113
Corte.....	113
Desova .....	114
Sucesso reprodutivo.....	117

Discussão .....	117
Seleção sexual .....	119
Corte.....	120
Desova .....	121
Sucesso reprodutivo.....	124
Conclusões .....	125
Referências.....	126
Legenda das figuras.....	136
Conclusões gerais.....	147
Anexo 1 .....	149

## 1 **Agradecimentos**

2           Agradeço primeiramente ao prof. Luís Felipe Toledo por toda a atenção e  
3 orientação; ao prof. Maurício Moura pela ajuda com as análises estatísticas e conversas  
4 de corredor, ao prof. James Roper pelas enormes dicas, ajudas com a língua inglesa e  
5 ajuda na estatística; e aos profs. Célio Haddad e Cynthia Prado pelas magníficas  
6 sugestões.

7           A todos os professores da PPGECO, pelo companheirismo, conversas de  
8 corredor, ajudas em dúvidas bestas e empréstimo de material. Em especial aos profs  
9 Isabela, Márcia, Valéria, Zão, James, Rosana e Maurício.

10           Ao prof. Emygdio pelas ajudas nas análises de som e por encher minha cabeça  
11 com idéias de novos projetos. E ao prof. Evandro Maia, possivelmente o culpado por  
12 colocar essa “sementinha” de bióloga dentro de mim.

13           Ao Mauro, pela compreensão nas muitas semanas ausente, pelas viagens  
14 magníficas durante o mestrado, que garantiram a minha sanidade mental e pela  
15 paciência nas semanas finais; Aos meus pais e irmãos, por toda a minha formação, seja  
16 na vontade de conhecer, na habilidade de discutir fatos, ajudas com estatística e  
17 softwares. Aos meus sogros, cunhados e novos primos, que mesmo sem compreenderem  
18 o meu trabalho, me apoiaram nessa empreitada.

19           As minhas amigas tão queridas Carla, Penta, Carol e Flávia, pelo apoio  
20 incondicional. Aos meus amigos mesmo que distantes... que em qualquer parte do  
21 mundo me apoiaram com palavras doces e de incentivo (Claudivã, Adriano, Anderson,  
22 Marcelo, Nelson, Tiago R., Tiago O., Fernando, Jamila e Carol) e por muitas vezes me  
23 fizeram companhia madrugadas adentro. Especialmente ao Nelson por toda a ajuda e  
24 companheirismo.

25           Aos amigos do PPGECO (Daniele, Juliana, Izabella, Janaína, Alcides, Josias,  
26 Marcos, Peterson, Renato, Ricardo e Tico) pelo companheirismo e compreensão quando  
27 por vezes receberam respostas atravessadas. Amigos que participaram de toda esta etapa  
28 da minha vida. Amizades que duraram, mesmo quando pouco nos víamos.  
29 Especialmente ao Peterson e a Fer, pelas agradáveis discussões herpetológicas.

30           Aos herpetólogos: Rodrigo Lingnau, por todo o apoio e ajuda, seja na  
31 dissertação ou em outras publicações; Juliana Zina pelos conhecimentos em campo e  
32 material emprestado e Renato Bérnils pelas palavras de incentivo e confiança.

33           A FBPN, nas pessoas de Zuleika, Paulo, Lucas, Seu Lino, Seu Pedrinho, Jandir,  
34 Dona Helô e D. Marlene por me acolherem tão bem durante as semanas que passei na  
35 reserva. A Manuela e Joana pela amizade e companhia nas semanas de isolamento.

36           E aos meus tão queridos ajudantes de campo, que possuem uma importante  
37 participação na coleta dos dados (Amanda, Carine, Elisa e Nelson).

38           Muito Obrigada!

39

## 40 **Introdução**

41 O estudo da biologia reprodutiva de anfíbios anuros compreende todos os  
42 aspectos associados com a atividade de reprodução. Podem envolver, por exemplo, o  
43 conhecimento da temporada reprodutiva (Bernarde & Machado 2001; Wogel et al.  
44 2002; Toledo et al. 2003; De-Carvalho et al. 2008), o turno de vocalização (Cardoso &  
45 Martins 1987; De-Carvalho et al. 2008), o padrão temporal da atividade de reprodução  
46 (Pombal & Haddad 2005) e o modo reprodutivo das espécies (Pombal & Haddad 2005;  
47 De-Carvalho et al. 2008). Podem abordar ainda os diversos tipos de vocalizações e seus  
48 contextos de emissão (Bastos et al. 2003; Lingnau & Bastos 2003; Lingnau et al. 2004;  
49 Costa et al. 2006; Lingnau & Bastos 2007), a influência sofrida devido a fatores  
50 abióticos (Navas & Bevier 2001; Bastos et al. 2003; Lingnau et al. 2004) e podem  
51 envolver a descrição de comportamentos sociais como: corte (Costa et al. 2006), briga  
52 (Toledo & Haddad 2005a), formação de casais (Costa et al. 2006), postura de ovos  
53 (Costa et al. 2006) e características morfológicas das diferentes fases da vida (Buskirk  
54 2000; Leips et al. 2000; Nomura et al. 2003). Além disso, podem ser abordados também  
55 fatores quantitativos relativos as relações de fecundidade (Pombal & Haddad 2005,  
56 Camargo et al. 2008) e identificar fatores que tenham efeito sobre a seleção sexual  
57 (Monnet & Cherry 2002; Byrne 2004).

58 O período de atividade pode variar entre espécies diurnas (Costa et al. 2006;  
59 Hartmann et al. 2006; Lingnau & Bastos 2007) e noturnas (Guimarães & Bastos 2003,  
60 Lingnau et al. 2004; Brasileiro & Martins 2006). A temporada reprodutiva é nas épocas  
61 mais quentes e úmidas para a maioria das espécies brasileiras (Wogel et al. 2002;  
62 Giaretta & Menin 2004) e padrões temporais de comportamento reprodutivo podem ser  
63 em um gradiente que varia de: prolongado, quando se estende por várias semanas; a

64 explosivo, quando se estende por poucos dias (Wells 1977), e em geral possui  
65 características comportamentais associadas como um número grande de casais  
66 simultaneamente em amplexo, machos em procura ativa por fêmeas e vocalizações  
67 sobrepostas (Pombal & Haddad 2005). Ou pode ser contínuo onde se tem fêmeas com  
68 ovos, desovas e girinos o ano todo, oportunistas onde a espécie entra em atividade  
69 reprodutiva dependendo das condições ambientais, ou esporádicas, quando estão em  
70 atividade ocasionalmente (Crump 1974).

71 Os modos reprodutivos descritos para espécies de anuros são muitos e levam em  
72 consideração fatores como: características da desova (e.g., se em ninho de espuma ou se  
73 livre na água); local de deposição dos ovos (e.g., se no solo, na água, em tocas  
74 subterrâneas); características do girino (se endotrófico ou exotróficos); local de  
75 desenvolvimento do girino (e.g., em ambiente lântico ou lótico) e cuidado parental,  
76 quando este se faz presente (Haddad & Prado 2005).

77 A vocalização é um mecanismo de comunicação eficiente (Ryan 2001) e é  
78 altamente desenvolvida entre os anuros (Haddad & Giaretta 1999). As diversas funções  
79 da vocalização podem ser, por exemplo, a atração de parceiros sexuais (Haddad &  
80 Cardoso 1992; Duellman & Trueb 1994; Schwartz 1994; Brenowitz & Rose 1999), nas  
81 interações agressivas, relativas à defesa ou disputa de sítios de vocalização (Bastos &  
82 Haddad 2001; Guimarães & Bastos 2003) e desova (Martins et al. 1998), de forma a  
83 definir vencedores em duelos e assim evitar as interações físicas que podem ser  
84 prejudiciais para ambos os combatentes (Bastos & Haddad 2002).

85 A grande variedade comportamental exibida pelas diferentes espécies de anuros  
86 pode envolver complexas comunicações vocais, visuais, químicas e táteis (Ryan 1985b;  
87 Haddad & Sawaya 2000; Giaretta & Kokubum 2004; Lucas et al. 2008; Kokubum &  
88 Souza 2008). A descrição de comportamentos sociais como corte (Costa et al. 2006),

89 briga (Toledo & Haddad 2005b), formação de casais (Costa et al. 2006), postura de  
90 ovos (Costa et al. 2006) e cuidado dos pais com a prole (Jungfer & Weygoldt 1999;  
91 Gibson & Buley 2004, Santos & Amorim 2006) não são incomuns, mas ainda estão  
92 longe de serem conhecidos para todas as espécies.

93 Considerando a importância de conhecer as peculiaridades da biologia de cada  
94 espécie, garantindo assim que estas sejam conservadas e a necessidade de conhecimento  
95 de base em Unidades de Conservação para seu correto manejo, este trabalho pretende  
96 preencher as lacunas de informação sobre *Physalaemus spiniger* na Reserva Natural  
97 Salto Morato, Estado do Paraná, Brasil.

#### 98 O Gênero *Physalaemus*

99 O gênero *Physalaemus*, depois da revisão de Grant et al. (2006), faz parte da  
100 família Leiuiperidae, mas já fez parte da família Leptodactylidae, juntamente com  
101 *Eupemphix* e *Engystomops* que caracterizavam os pequenos leptodactídeos que  
102 habitavam áreas abaixo de 1200 m, desde o sul do México ao norte da Argentina  
103 (Lynch,1970).

104 O gênero *Physalaemus* foi criado por Fitzinger (1826) para uma única espécie,  
105 *P. cuvieri* que foi caracterizada pela presença de dedos delgados. O gênero *Eupemphix*  
106 foi descrito por Steindachner (1863) para as espécies *E. nattereri* e *E. petersi*. Em 1970,  
107 Lynch uniu as espécies do gênero *Engystomops* Jiménez-de-la-Espada, 1872,  
108 *Eupemphix* Steindachner, 1863 e *Physalaemus* Fitzinger, 1826 em um único gênero  
109 *Physalaemus* e reconheceu quatro grupos de espécies. A composição destes grupos  
110 foram discutidas quanto a sua filogenia por diversos autores (Heyer 1974; 1975;  
111 Canatella & Duellman 1984; Canatella et al. 1998; Tárano & Ryan 2002), inclusive com  
112 o uso de aloenzimas (Cannatella et al. 1998) e sugeriram que o gênero possuía dois

113 grupos monofiléticos: o grupo *Physalaemus pustulosus* e as demais espécies. Desde a  
114 divisão proposta por Lynch (1970) muitas espécies foram descritas e alocadas em um  
115 desses grupos (Nascimento et al. 2005).

116 Nascimento et al. (2005) fazem uma revisão do gênero, usando análises  
117 morfométricas, morfologia externa, padrão de coloração e características ósseas e  
118 propõem um novo arranjo das espécies de *Physalaemus*, reorganizando-as em sete  
119 grupos distintos e revalidando os gêneros *Engystomops* Jiménez-de-la-Espada, 1872,  
120 para acomodar as espécies do grupo *Physalameus pustulosus* (*sensu* Lynch, 1970), e  
121 *Eupemphix* Steindachner, 1863, para acomodar *E. nattereri* Steindachner, 1863.

122 Os sete grupos do gênero *Physalaemus* são: grupo *P. albifrons* (quatro espécies),  
123 *P. cuvieri* (nove espécies), *P. deimaticus* (três espécies), *P. gracilis* (cinco espécies), *P.*  
124 *henselii* (três espécies), *P. olfersii* (quatro espécies) e *P. signifer* (10 espécies)  
125 (Nascimento et al. 2005).

126 Desde 2005 quatro novas espécies de *Physalaemus* foram descritas.  
127 *Physalaemus insperatus* Cruz, Cassini, & Caramaschi, 2008 que pertence ao grupo *P.*  
128 *olfersii* e *P. angrensis* Weber, Gonzaga & Carvalho e Silva 2005 (Weber et al. 2005), *P.*  
129 *camacan* Pimenta, Cruz, & Silvano 2005 (Pimenta et al. 2005) e *P. irroratus* Cruz,  
130 Nascimento & Feio 2007 (Cruz et al. 2007) que fazem parte do grupo *P. signifer*. Este  
131 grupo aumentou seu número de 10 (Nascimento et al. 2005) para 13 espécies (Tabela 1)  
132 (Nascimento et al. 2005; Pimenta et al. 2005; Weber et al. 2005; Cruz et al. 2007).

133

134 Tabela 1 – lista das espécies do grupo *Physalaemus spiniger* (*sensu* Nascimento et al.  
135 2005).

---

Espécies do grupo <i>P. signifer</i> (Nascimento et al. 2005)
<i>Physalaemus angrensis</i> Weber, Gonzaga & Carvalho e Silva 2005
<i>Physalaemus atlanticus</i> Haddad & Sazima 2004
<i>Physalaemus bokermanni</i> Cardoso & Haddad 1985
<i>Physalaemus caete</i> Pombal & Madureira 1997
<i>Physalaemus camacan</i> Pimenta, Cruz & Silvano 2005
<i>Physalaemus crombiei</i> Heyer & Wolf, 1989
<i>Physalaemus irroratus</i> Cruz, Nascimento & Feio 2007
<i>Physalaemus maculiventris</i> (Lutz 1925)
<i>Physalaemus moreirae</i> (Miranda-Ribeiro 1937)
<i>Physalaemus nanus</i> (Boulenger 1888)
<i>Physalaemus obtectus</i> Bokermann 1966
<i>Physalaemus signifer</i> (Girard 1853)
<i>Physalaemus spiniger</i> (Miranda-Ribeiro 1926)

---

136

137 O grupo *P. signifer* possui tamanho de pequeno a moderado (14,9 a 28,5 mm no  
138 comprimento rostro-cloacal), o corpo delgado, ausência de tubérculos tarsais, presença  
139 de tubérculos metatarsais cônicos sem margens córneas, presença de pregas tarsais, saco  
140 vocal bem desenvolvido (exceto em *P. bokermanni*) e glândulas inguinais que variam  
141 de pequenas a grandes e estão associadas a ocelos negros. (Cruz et al. 2007). O grupo  
142 distribui-se dentro do domínio de Floresta Atlântica (*sensu* Ab'Saber 1977) desde o  
143 estado de Alagoas ao Rio Grande do Sul (Cruz et al. 2007).

144 A espécie *Physalaemus spiniger*

145 A espécie *Physalaemus spiniger* (Miranda Ribeiro 1926) pertence ao grupo *P.*  
146 *signifer*. Foi descrita em 1926 por Miranda-Ribeiro sob o nome de *Engystomops*  
147 *spinigera*, na localidade de Iguape, São Paulo. Foi re-descrita por Haddad e Pombal  
148 (1998), os quais reconhecem e descrevem três modos reprodutivos para a espécie: modo  
149 11 (Haddad & Prado 2005) que consiste em ninhos de espuma em poças e girinos

150 exotróficos desenvolvendo nas poças, modo 14 (Haddad & Prado 2005) ninho de  
151 espuma em água acumulada nas axilas das bromélias terrestres com girinos se  
152 desenvolvendo nas poças e o modo 28 (Haddad & Prado 2005), ninho de espuma em  
153 locais úmidos no chão da floresta, próximo a poça e girinos se desenvolvendo nas poças  
154 (Haddad & Prado 2005).

155 Além disso, o único trabalho realizado diretamente com a espécie foi a descrição  
156 de seu cariótipo e da região organizadora de nucléolos (Silva et al. 2000), que mostra  
157 que *P. spiniger* apresenta 22 pares de cromossomos.

158 A maioria das espécies do gênero *Physalaemus* apresenta a temporada  
159 reprodutiva durante a estação úmida e quente (e.g Bokermann 1962; 1967; Cardoso  
160 1981; Caramaschi et al. 1991; Barreto & Andrade 1995; Feio et al. 1999; Wogel et al.  
161 2002, Giaretta & Menin 2004; Haddad & Sazima 2004; Brasileiro & Martins 2006),  
162 porém, algumas espécies reproduzem no final da estação das chuvas (Maneyro et al.  
163 2008). Para a maioria das espécies do gênero é registrada atividade noturna (e.g  
164 Bokermann 1962; 1967; Cardoso 1981; Caramaschi et al. 1991; Barreto & Andrade  
165 1995; Feio et al. 1999; Wogel et al. 2002; Giaretta & Menin 2004; Brasileiro & Martins  
166 2006) exceto *P. riograndensis* que foi registrada vocalizando durante o dia (Barrio  
167 1965) e a reprodução é prolongada (Barrio 1965; Wogel et al 2002; Camargo et al 2005;  
168 Brasileiro & Martins 2006). Os modos reprodutivos que ocorrem no gênero são 11, 14 e  
169 28 (Haddad & Prado 2005), sendo o modo 11 (ninho de espuma na água, ancorados na  
170 vegetação) o mais comum entre as espécies (*P. atlanticus*, *P. centralis*, *P. cuvieri*,  
171 *P. albonotatus*, *P. gracilis*, *P. fernandezae*, *P. henseli*, *P. rupestris*, *P. signifer*, *P. caete* e  
172 *P. petersi*). A espécie com maior variedade de modos reprodutivos é *Physalameus*  
173 *spiniger* que apresenta três modos reprodutivos, porém não é incomum que as espécies  
174 apresentem modos reprodutivos alternativos [e.g. *P. atlanticus* que apresenta também a

175 desova no folhicho úmido próximo a poças (Haddad & Sazima 2004) (modo 28); *P.*  
176 *caete* que apresenta também as desovas em buracos de árvores próximos ao chão  
177 (Pombal & Madureira 1997) (variação do modo 14); *P. erythros* que apresenta desovas  
178 em fendas de rochas (Baeta et al. 2007) (variação do modo 14)].

179 Certamente a espécie mais estudada da família Leiuperidae é *Engystomops*  
180 *pustulosus* para a qual são conhecidos a vocalização (seus tipos, variações e  
181 influencias), o comportamento de corte e formação de casais, os fatores de seleção  
182 sexual, o comportamento da desova, o modo reprodutivo, os fatores de seleção sexual, o  
183 comportamento de corte e de briga (Drewry et al.1982; Ryan 1983,1985a; Ryan & Rand  
184 1990; Sun et al. 1995; Cannatella et al., 1998; Ryan & Rand, 1999; Bosch et al. 2000;  
185 Dillon & Fiaño 2000; Marsh 2001;Marsh et al. 2001; Wilczynski et al. 2001;Gridi-Papp  
186 et al. 2006; Lynch et al. 2006; Prohl et al. 2006; Ron et al. 2006; Bernal et al. 2007;  
187 Ryan et al. 2007; Cummings et al. 2008).

188 Para algumas outras espécies da família há um conhecimento significativo sobre  
189 a biologia reprodutiva de forma geral [*P. centralis* (Brasileiro & Martins 2006); *P.*  
190 *signifer* (Wogel et al. 2002); *P. atlanticus* (Haddad & Sazima 2004), *P. cvieri* (Barreto  
191 & Andrade 1995); *P. cf. marmoratus* (Giaretta & Menin 2004)], aspectos da  
192 vocalização (Funk et al. 2005, Bionda et al. 2006), seleção sexual (Tárano & Herrera  
193 2003) e esforço reprodutivo (Camargo et al. 2008). Porém, para a grande maioria das  
194 espécies o conhecimento ainda é incipiente.

195 O objetivo do presente estudo é obter informações sobre a biologia de *P.*  
196 *spiniger*, enfocando principalmente o aspecto acústico, com a caracterização do  
197 repertório da espécie e dos fatores que influenciam nas vocalizações; os aspectos  
198 morfológicos, com a caracterização morfológica da população de *P. spiniger* residente  
199 na Reserva Natural Salto Morato em comparação com demais populações desta espécie;

200 e aspectos reprodutivos, com a caracterização da deposição dos ovos e da desova, dos  
201 ovos e do sucesso de fertilização, além da descrição da corte, amplexo e desova.

202 Tendo em vista a grande complexidade vocal apresentada por outras espécies da  
203 família (e.g., *E. pustulosus*) e da já conhecida plasticidade em modos reprodutivos  
204 apresentados por *P. spiniger*, esperamos que a espécie apresente comportamento de  
205 corte semelhante as demais espécies da família (com atividades acústicas), e um  
206 repertório vocal variado (com a vocalização de briga, além das vocalizações já  
207 conhecidas) como outras espécies da família.

## 208 **Referências**

- 209 Ab'Saber, A. N. 1977. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. Primeira  
210 aproximação. Geomorfologia 52:1-23.
- 211 Baêta, D., Lourenço, A. C., & Nascimento, L. B. 2007. The tadpole and advertisement  
212 call of *Physalaemus erythros* Caramaschi, Feio & Guimaraes-Neto, 2003  
213 (Amphibia, Anura, Leiuperidae). Zootaxa 1623: 39-46.
- 214 Barreto, L. & Andrade, G. V. 1995. Aspects of the reproductive biology of  
215 *Physalaemus cuvieri* (Anura: Leptodactylidae) in northeastern Brazil. Amphibia-  
216 Reptilia 16 (1): 67-76
- 217 Barrio, A. 1965. El género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina.  
218 Physis 25: 421-448.
- 219 Bastos, R. P. & Haddad, C. F. B. 2001. Larvas de *Scinax rizibilis* (Bokermann) (Anura,  
220 Hylidae): avaliando o efeito parental. Revista Brasileira de Zoologia 18: 1127-  
221 1133.

- 222 Bastos, R. P. & Haddad, C. F. B. 2002. Acoustic and aggressive interactions in *Scinax*  
223 *rizibilis* (Anura: Hylidae) during the reproductive activity in southeastern Brazil.  
224 *Amphibia-Reptilia* 23: 97-104.
- 225 Bastos, R. P., Bueno, M. A. F., Dutra S. L. & Lima, L. P. 2003. Padrões de vocalização  
226 de anúncio em cinco espécies de Hylidae (Amphibia: Anura) do Brasil Central.  
227 Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Série Zoologia  
228 16: 39-51.
- 229 Bernal, X. E., Rand, S. A., & Ryan, M. J. 2007. Sexual Differences in the Behavioral  
230 Response of Túngara Frogs, *Physalaemus pustulosus*, to Cues Associated with  
231 Increased Predation Risk. *Ethology* 113 (8): 755-763.
- 232 Bernarde, P. S. & Machado, R. A. 2001. Riqueza de espécies, ambientes de reprodução  
233 e temporada de vocalização da anurofauna em Três Barras do Paraná, Brasil  
234 (Amphibia: Anura). *Cuadernos de Herpetología* 14: 93-104.
- 235 Bionda, C., Salas, N., & Tada, I. 2006. Variación bioacústica en poblaciones de  
236 *Physalaemus biligonigerus* (Anura: Çeptodactylidae) em Córdoba, Argentina.  
237 *Revista Española de Herpetología* 20: 95-104.
- 238 Bokermann, W. C. 1962. Observações Biológicas sobre "*Physalaemus cuvieri*"  
239 Fitz, 1826 (Amphibia, Salientia). *Revista Brasileira de Biologia* 22 (4): 391-339.
- 240 Bokermann, W. C. 1967. Três novas espécie de "*Physalaemus*" do sudeste Brasileiro.  
241 *Revista Brasileira de Biologia* 27 (2): 135-143.

- 242 Bosch, J., Rand, A. S. & Ryan, M. J. 2000. Acoustic competition in *Physalaemus*  
243 *pustulosus*, a differential response to calls of relative frequency. *Ethology* 106:  
244 865-871.
- 245 Brasileiro, C. A. & Martins, M. 2006. Breeding biology of *Physalaemus centralis*  
246 Bokermann, 1962 (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil. *Journal of*  
247 *Natural History* 40 (17-18): 1199-1209.
- 248 Brenowitz, E. A. & Rose, G. J. 1999. Female choice and plasticity of male calling  
249 behaviour in the pacific treefrog. *Animal Behaviour* 57: 1337-1342.
- 250 Buskirk, J. V. 2000. The Costs of an Inducible Defense in Anuran Larvae. *Ecology* 81  
251 (10): 2813-2821.
- 252 Byrne, P. G. 2004 Intrasexual selection and group spawning in quacking frogs (*Crinia*  
253 *georgiana*). *Behavioral Ecology* 15 (5): 872-882.
- 254 Camargo, A., Naya, D. E., Canavero, A., Rosa, I. & Maneyro, R. 2005. Seasonal  
255 activity and the body size–fecundity relationship in a population of *Physalaemus*  
256 *gracilis* (Boulenger, 1883)(Anura, Leptodactylidae) from Uruguay. *Annales*  
257 *Zoologici Fennici* 42: 513-521.
- 258 Camargo, A., Sarroca, M., & Maneyro, R. 2008. Reproductive effort and the egg  
259 number vs. size trade-off in *Physalaemus* frogs (Anura: Leiuperidae). *Acta*  
260 *Oecologica* 34 (2): 163-171.
- 261 Canatella, D. C. & Duellman, W. E. 1984. Leptodactylid frogs of the genus  
262 *Physalaemus pustulosus* group. *Copeia* 1984 (4): 902-921.

- 263 Cannatella, D. C., Hillis, D., Chippindale, P. T., Weigt, L., Rand, A. S., Ryan, M. J.,  
264 1998. Phylogeny of Frogs of the *Physalaemus pustulosus* Species Group With  
265 an Examination of Data Incongruence. *Systematic Biology* 47 (2): 311-335.
- 266 Cardoso, A. J. 1981. Biologia e sobrevivência de *Physalaemus cuvieri* (Fitz.) 1826  
267 (Amphibia, Anura) na natureza. *Ciência e Cultura* 33: 1224-1228.
- 268 Cardoso, A. J. & Martins J. E. (1987) Diversidade de anuros durante o turno de  
269 vocalizações, em comunidade neotropical. *Papéis avulsos de Zoologia, São*  
270 *Paulo* 36 (23): 270-285.
- 271 Caramaschi, U., Carcerelli, L. C. & Feio, R. N. 1991. A new species of *Physalaemus*  
272 (Anura: Leptodactylidae) from Minas Gerais, Southeastern Brasil. *Herpetologica*  
273 47 (2): 148-151.
- 274 Costa, R. C. Facure, K. G. & A. A. Giaretta 2006. Vocalização e descrição do girino de  
275 *Epipedobates flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) no sul de Goiás. *Biota*  
276 *Neotropica* 6(1) Disponível em:  
277 <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?article+bn00506012006> .  
278 ISSN 1676-061
- 279 Crump, M. L. 1974. Reproductive strategies in a tropical anuran community.  
280 *Miscellaneous Publications of the Museum of Natural. History of the. University*  
281 *of Kansas* 61: 1-68.
- 282 Cruz, C. A. G., Nascimento, L. B. & Feio, R. N. 2007. A new species of the genus  
283 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leiuperidae) from Southeastern Brazil.  
284 *Amphibia- Reptilia* 28: 457-465.

- 285 Cummings, M. E., Bernal, X. E., Reynaga, R., Rand, a. S., & Ryan, M. J. 2008. Visual  
286 sensitivity to a conspicuous male cue varies by reproductive state in  
287 *Physalaemus pustulosus* females. The Journal of Experimental Biology 211 (8):  
288 1203-10.
- 289 De-Carvalho, C. B., Freitas, E. B., Faria, R. B., Batista, R. C., Batista, C.C., Coelho, W.  
290 A. & Bocchiglieri, A. 2008. História natural de *Leptodactylus mystacinus* e  
291 *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) no Cerrado do Brasil Central.  
292 Biota Neotropica 8 (3): 105-115.
- 293 Dillon, M. E. & Fiaño, J. 2000. Oviposition Site Selection by the Túngara Frog  
294 (*Physalaemus pustulosus*). Copeia 2000 (3): 883-885.
- 295 Drewry, G. E., Heyer, W. R. & Rand, A. S. 1982. A funcional Analysis of the Complex  
296 Call of the Frog *Physalaemus pustulosus*. Copeia 1982 (3): 636-645.
- 297 Duellman, W. E. & Trueb, L. 1994. Biology of Amphibians. New York. McGraw-Hill  
298 Book Company. 679p.
- 299 Feio, R. N., Pombal Jr, J. P., & Caramaschi, U. 1999. New *Physalaemus* (Anura:  
300 Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of Minas Gerais. Copeia 99: 141-145.
- 301 Frost, D. R. 2002. Amphibian species of the world: an online reference. v2.21.  
302 Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>>.
- 303 Funk, W. C., & Angulo, A. 2008. Comparison of morphology and calls of two cryptic  
304 species of *Physalaemus* (Anura: Leiuperidae). Herpetologica 64 (3): 290-304.

- 305 Giaretta, A., & Menin, M. 2004. Reproduction, phenology and mortality sources of a  
306 species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Natural History* 38  
307 (13): 1711-1722.
- 308 Giaretta, A. A. & Kokubum, M. N. C. 2004. Reproductive ecology of *Leptodactylus*  
309 *furnarius* Sazima & Bokermann, 1978, a frog that lay eggs in underground  
310 chambers (Anura, Leptodactylidae). *Herpetozoa* 16: 115-126.
- 311 Gibson, R. C & Buley, K. R. 2004. Maternal Care and Obligatory Oophagy in  
312 *Leptodactylus fallax*: A New Reproductive Mode in Frogs. *Copeia* 1: 128-135.
- 313 Grant, T., Frost, D. R., Caldwell, J. P., Gagliardo, R., Haddad, C. F. B., Kok, P. J. R.,  
314 Means, B. D., Noonan, B. P., Schargel, W., & Wheeler, W. C. 2006.  
315 Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Anura:  
316 Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural*  
317 *History* 299: 184-203.
- 318 Gridi-Papp, M., Rand, A., & Ryan, M. J. 2006. Complex call production in the túngara  
319 frog. *Nature* 441: 441038-441038.
- 320 Guimarães, D. L. & Bastos, R. P. 2003. Vocalizações e interações acústicas em *Hyla*  
321 *raniceps* (Anura: Hylidae) durante a atividade reprodutiva. *Iheringia* 93 (2): 149-  
322 158.
- 323 Haddad C. F. B. & Cardoso A. J. 1992. Female choice in *Hyla minuta* (Amphibia:  
324 Anura). *Acta Zoologica Lilloana* 41: 81-91.

- 325 Haddad, C. F. B. & Giaretta, A. A. 1999. Visual and acoustic communication in the  
326 Brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura; Leptodactylidae) *Herpetologica* 55  
327 (3): 324-333.
- 328 Haddad, C. F. B. & Pombal Jr, J. P. 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger*  
329 (Anura:Leptodactylidae) and Description of two new reproductive modes.  
330 *Journal of Herpetology* 32 (4): 557-565.
- 331 Haddad, C. F. B., & Prado, C. P. A. 2005. Reproductive modes in frogs and their  
332 unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *BioScience* 55 (3): 207-217.
- 333 Haddad, C. F. B & Sazima, I. 2004. A new species of *Physalaemus* (Amphibia:  
334 Leptodactylidae) from the Atlantic forest in southeastern Brazil. *Zootaxa* 12:  
335 5326-5326.
- 336 Haddad, C. F. B. & Sawaya, R. J. 2000. Reproductive Modes of Atlantic Forest Hylid  
337 Frogs: A General Overview and the Description of a New Mode *Biotropica* 32  
338 (4b): 862–871.
- 339 Hartmann, M. T., Hartmann, P. A. & Haddad C. F. B. 2006 Repertório vocal de  
340 *Hylodes phyllodes* (Amphibia, Anura, Hylodidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*  
341 46 (17): 203-209.
- 342 Heyer, W. R. 1974. Relationships of the *marmoratus* species group (Amphibia,  
343 Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. *Natural History*  
344 *Museum of Los Angeles County Contributions in Science* 253: 1-46.
- 345 Heyer, W. R. 1975. A preliminary analysis of the intrageneric relationships of the frog  
346 family Leptodactylidae. *Smithsonian Contributions to Zoology* 199: 1-55.

- 347 Jungfer, K. H. & Weygoldt, P. 1999. Biparental care in the tadpole-feeding Amazonian  
348 treefrog *Osteocephalus oophagus*. *Amphibia-Reptilia* 20: 235-249.
- 349 Kokubum, M. N. C. & Souza, M. B. 2008. Reproductive ecology of *Leptodactylus* aff  
350 *hylaedactylus* (Anura, Leptodactylidae) from an open area in Northern Brazil.  
351 *South American Journal of Herpetology* 3: 15–21.
- 352 Leips, J., McManus, M.G. & Travis, J. 2000. Response of Treefrog Larvae to Drying  
353 Ponds: Comparing Temporary and Permanent Pond Breeders. *Ecologia* 81 (11):  
354 2997-3008.
- 355 Lingnau, R. & Bastos, R. P. 2003. Vocalizações de duas espécies de anuros do sul do  
356 Brasil (Amphibia hylidae). *Arquivos do Museu Nacional* 61 (3): 203-207.
- 357 Lingnau, R. & Bastos, R. P. 2007. Vocalizations of the brasilian torrent frog *Hylodes*  
358 *heyeri* (Anura:Hylodidae): Repertorie and influence of air temperature on  
359 advertisement call variation. *Journal of Natural Hystory* 41 (17-20): 1227-1235
- 360 Lingnau, R., Guimarães L. D. & Bastos R. P. 2004. Vocalizações de *Hyla weneri*  
361 (Anura, Hylidae) no sul do Brasil. *Phyllomedusa* 3 (2): 115-120.
- 362 Lucas, E. M., Brasileiro, C. A., Oyamaguchia, H. M. & Martins, M. 2008. The  
363 reproductive ecology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae): new  
364 data from natural temporary ponds in the Brazilian Cerrado and a review  
365 throughout its distribution. *Journal of Natural History* 42 (35–36): 2305–2320.
- 366 Lynch, J. D. 1970. Systematic status of the American leptodactylid frog genera  
367 *Engystomops*, *Eupemphix*, and *Physalaemus*. *Copeia* 3: 488-496.

- 368 Lynch, K. S., Crews, D., Ryan, M. J., & Wilczynski, W. 2006. Hormonal state  
369 influences aspects of female mate choice in the Túngara Frog (*Physalaemus*  
370 *pustulosus*). *Hormones and behavior* 49 (4): 450-457.
- 371 Maneyro, R., Núñez, D., Borteiro, C., Tedros, M., & Kolene, F. 2008. Advertisement  
372 call and female sexual cycle in Uruguayan populations of *Physalaemus henselii*  
373 (Anura, Leiuperidae). *Iheringia* 98 (2): 210-214.
- 374 Marcelino, V., Haddad, C. F. B. & Alexandrino, J. 2009 Geographic Distribution and  
375 Morphological Variation of Striped and Non-Striped Populations of the  
376 Brazilian Atlantic Forest Treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). *Journal*  
377 *of Herpetology* 43 (2): 351-361.
- 378 Marsh, D. M. 2001. Behavioral and demographic responses of Túngara frogs to  
379 variation in pond density. *Ecology* 82 (5): 1283-1292.
- 380 Marsh, D. M., Fegraus, E. H., & Harrison, S. 1999. Effects of breeding pond isolation  
381 on the spatial and temporal dynamics of pond use by the tungara frog  
382 *Physalaemus pustulosus*. *Journal of Animal Ecology* 68: 804-814.
- 383 Martins, M. 1998. Biologia reprodutiva de *Leptodactylus fuscus* em Boa Vista, Roraima  
384 (Amphibia: Anura). *Revista Brasileira de Biologia* 48 (4): 969-977.
- 385 Monnet, J. & Cherry, M. I. 2002. Sexual size dimorphism in anurans. *Proceedings of*  
386 *the Royal Society B* 269 (1507): 2301-2307
- 387 Nascimento, L. B., Caramaschi, U., & Cruz, C. A. G. 2005. Taxonomic review of the  
388 species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with the revalidation  
389 of the genera *Engystomops* Jiménez-De La-Espada, 1872 and *Eupemphix*

- 390 Steindachner, 1863 (Amphibia Anura, Leptodactylidae) Arquivos do Museu  
391 Nacional 63 (2): 297-320
- 392 Navas, C. A. & Bevier, C. R. 2001. Thermal dependency of calling performance in the  
393 eurithermic frog *Colostetus subpunctatus*. *Herpetologica* 57: 384-395.
- 394 Nomura, F., Rossa-feres D. C. & Prado, V. H. M. 2003. The tadpole of *Physalaemus*  
395 *fuscumaculatus* (Anura: Leptodactylidae), with a description of internal oral  
396 morphology. *Zootaxa* 8: 1-8.
- 397 Pimenta, B. V., Cruz, C. A. & Silvano, D. L. 2005. A new species of the genus  
398 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain  
399 Forest of southern Bahia, Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26: 201-210.
- 400 Pombal Jr., J. P. & Haddad C. F. B. 2005. Estratégias e modos reprodutivos de anuros  
401 (Amphibia) em uma poça permanente na Serra de Paranapiacaba, Sudeste do  
402 Brasil. *Papéis Avulsos de Zoologia* 45 (15): 201-213.
- 403 Pombal Jr, J. P. & Madureira C. A. 1997. A new species of *Physalaemus* (Anura,  
404 Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest of Northeastern Brazil. *Alytes* 15  
405 (3): 105-112
- 406 Prohl, H., Koshy, R. A., Mueller, U., Rand, A. S. & Ryan, M. J. 2006. Geographic  
407 variation of genetic and behavioral traits in northern and southern túngara frogs.  
408 *Evolution* 60 (8): 1669-1679.
- 409 Ron, S. R., Santos, J. C. & Cannatella, D. C. 2006. Phylogeny of the túngara frog genus  
410 *Engystomops* (= *Physalaemus pustulosus* species group; Anura:  
411 Leptodactylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39 (2): 392-403.

- 412 Ryan, M. J. 1983. Sexual selection and communication in a neotropical frog *Physalaemus*  
413 *pustulosus*. *Evolution* 37 (2): 261-272.
- 414 Ryan, M. J. 1985a. Energetic efficiency of vocalization by the frog *Physalaemus*  
415 *pustulosus*. *Journal of Experimental Biology* 116: 47-52.
- 416 Ryan, M. J. 1985b. The Túngara frog: A Study in a Sexual Selection and  
417 Communication. The University of Chicago Press, Chicago 51p.
- 418 Ryan, M. J. 2001. Anuran Communication. Smithsonian Institution Press, Washington,  
419 London, 252p.
- 420 Ryan, M. J. & Rand, A. S. 1990. The sensory basis of sexual selection for complex calls  
421 in the Túngara frog, *Physalaemus pustulosus* (sexual selection for sensory  
422 exploitation). *Evolution* 44 (2): 305-314.
- 423 Ryan, M. J. & Rand, A. S. 1999. Phylogenetic influence on mating call preferences in  
424 female túngara frogs. *Animal Behaviour* 57: 945-956.
- 425 Ryan, M. J., Bernal, X. E. & Rand, A. S. 2007. Patterns of mating call preferences in  
426 túngara frogs, *Physalaemus pustulosus*. *Journal of Evolutionary Biology* 20 (6):  
427 2235-2247
- 428 Santos, E. M. & Amorim, F. O. 2006. Cuidado parental em *Leptodactylus natalensis*  
429 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Iheringia* 96(4): 491-494
- 430 Schwartz, J. J. 1994. Male advertisement and female choice in frogs: recent findings  
431 and new approaches to the study of communication in a dynamic acoustic  
432 environment. *American Zoologist* 34: 616-624.

- 433 Silva, A. P. Z., Baldissera Jr, F. A., Haddad, C. F. B & Kasahara, S. 2000. Karyotypes  
434 and nucléolos organizer regions in four species of genus *Physalaemus* (Anura,  
435 Leptodactylide). *Iherigia* 88: 159-164
- 436 Sun, L., Wilczynski, W., Rand, A. S. & Ryan, M. J. 1995. Trade-off in short- and long-  
437 distance communication in túngara (*Physalaemus pustulosus*) and cricket (*Acris*  
438 *crepitans*) frogs. *Behavioral Ecology* 11 (1): 102-109.
- 439 Tárano, Z. & Herrera, E. A. 2003. Female Preferences for Call Traits and Male Mating  
440 Success in the Neotropical Frog *Physalaemus enesevae*. *Ethology* 134: 121-134.
- 441 Tárano, Z. & Ryan, M. J. 2002. No pre-existing biases for heterospecific call traits in  
442 the frog *Physalaemus enesevae*. *Animal Behaviour* 64: 599–607.
- 443 Toledo, L. F. & Haddad, C. F. B. 2005a. Acoustic repertoire and calling site of *Scinax*  
444 *fuscomarginatus* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* 39 (3): 455-464.
- 445 Toledo, L. F., & Haddad, C. F. B. 2005b Reproductive biology of *Scinax*  
446 *fuscomarginatus* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. *Journal of*  
447 *Herpetology* 39: 3029-3037.
- 448 Toledo, L. F., Zina, J. & Haddad, C. F. B. 2003. Distribuição temporal e espacial de  
449 uma comunidade de anfíbios anuros no município de Rio Claro, São Paulo,  
450 Brasil. *Holos Environment* 3(2): 197-212.
- 451 Toledo, L. F., Araújo, O. G. S., Guimarães, L. D., Lingnau, R. & Haddad, C. F. B.  
452 2007. Visual and acoustic signaling in three species of Brazilian nocturnal tree  
453 frogs (Anura, Hylidae). *Phyllomedusa* 6(1): 61-68.

- 454 Weber, L. N., Gonzaga, L. P., & Carvalho-e-Silva, S. P. 2005. A new species of  
455 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland Atlantic Forest of Rio de Janeiro  
456 state Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Arquivos do Museu Nacional  
457 63(4): 677-684.
- 458 Wells, K. D. 1977. The Social behavior of anuran amphibians. *Animal Behaviour* 25:  
459 666-693.
- 460 Wilczynski, W., Rand, S. A. & Ryan, M. J. 2001. Evolution of Calls and Auditory  
461 Tuning in the *Physalaemus pustulosus* Species Group. *Brain Behavior and*  
462 *Evolution* 58: 137-151.
- 463 Wogel, H., Abrunhosa, P. A., & Pombal Jr, J. P. 2002. Atividade reprodutiva de  
464 *Physalaemus signifer* (Anura Leptodactylidae) em ambiente temporário.  
465 *Iheringia* 92(2): 57-60.

## Informações editoriais

### Capítulo 1

**Título:** *Physalaemus spiniger* (Anura: Leuiperidae): Uma rãzinha com repertório vocal acrobático

**Periódico Previsto:** Bioacustics ISSN: 0952-4622

**Qualis:** B1 - fator de impacto (2007) 1.263 (source: *Journal of Citation Reports* published by Thomson Scientific, June 2008).

**Editorial:** É dedicado ao estudo dos sons dos animais. Publica pesquisas originais e artigos de revisão, comentários, análises de equipamentos e informações sobre sons dos animais selvagens.

**Línguas:** Inglês

**Categoria:** *Paper*

**Autor check-list:**

<http://www.bioacoustics.info/mssubmit.html>

### Capítulo 2

**Título:** Variações morfológicas das populações de *Physalaemus spiniger* (Anura: Leuiperidae)

**Periódico Previsto:** Herpetologica 0018-0831

**Qualis:** B1

**Editorial:** É dedicado a artigos sobre anfíbios e répteis.

**Línguas:** Inglês

**Categoria:** *Paper*

**Autor check-list:**

<http://www.hljournals.org/pdf/HL-Instructions-for-Authors.pdf>

### Capítulo 3

**Título:** Biologia reprodutiva de *Physalaemus spiniger* (Anura, Leiuperidae), com a descrição de novo modo reprodutivo para o gênero

**Periódico Previsto:** Herpetologica 0018-0831

**Qualis:** B1

**Editorial:** É dedicado a artigos sobre anfíbios e répteis.

**Línguas:** Inglês

**Categoria:** *Paper*

**Autor check-list:**

<http://www.hljournals.org/pdf/HL-Instructions-for-Authors.pdf>

1 **Capítulo 1 - *Physalaemus spiniger* (Anura: Leiuperidae): Uma rãzinha com**  
2 **repertório vocal acrobático**

3 Thais R. N. Costa<sup>1,3</sup> & Luís Felipe Toledo<sup>1,2</sup>

4

5 <sup>1</sup>Programa de pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do  
6 Paraná. Setor de Ciências Biológicas, Caixa Postal 19031, CEP 81531-980, Curitiba,  
7 Paraná, Brasil. E-mail: thaisreginacosta@gmail.com

8

9 <sup>2</sup>Museu de Zoologia “Prof. Adão José Cardoso”, Universidade Estadual de Campinas  
10 (UNICAMP- IB), Rua Albert Einstein s/n, Campinas, São Paulo, CEP13083-863 E-  
11 mail: toledolf2@yahoo.com

12

13 <sup>3</sup>Correspondence: *e-mail: thaisreginacosta@gmail.com*

14

15 Revista adotada para formatação: Bioacustics

16

## 17 Abstract

18 Vocalizations of anurans are generally a conservative characteristic, without much  
19 variation within a species. Only few species have a wide variation in the emission of the  
20 advertisement call. *Physalaemus spiniger* calls were recorded in the field and analyzed.  
21 We recognized and described five call types: advertisement (Ca), territorial (Ct), fight  
22 (Cb), release (Cs), and courtship calls (Cc). These calls differ in duration, number of  
23 pulses by note, and fundamental frequency (Fh1). The advertisement call presented a  
24 wide variation in the physical structure, having six harmonics (Fh) with one to three  
25 being visible and two to three non-visible in the sonogram. The higher intensity was  
26 recorded between the Fh3 (1.27 kHz) and Fh4 (1.68 kHz). The call had an average of  
27 237.63 ms and an average of 371.57 pulses. The frequency modulation observed was  
28 ascending and/or descending and located in any region of the note. Advertisement calls  
29 can be emitted with territorial calls, in which case the advertisement call had its  
30 characteristics modified. We identified at least 22 different forms of issue of the  
31 advertisement call. The function of this variation and of each of the observed patterns is  
32 unclear, but it makes this species an excellent model for testing and remarkable, given  
33 that, to our knowledge, only two other species can also perform such vocal acrobatics.

34

35 Key words: Amphibia, *Physalaemus*, vocalization, variation, advertisement call.

36

## 37    Resumo

38    As vocalizações dos anuros geralmente são conservadas e estereotipadas e somente  
39    poucas espécies são conhecidas por possuírem uma grande variação na emissão de uma  
40    mesma nota ou canto. Vocalizações de *Physalaemus spiniger* foram registradas em  
41    campo e analisadas em laboratório. Foram reconhecidas e descritas cinco notas ou  
42    cantos diferentes: anúncio (Ca); territorial (Ct); briga (Cb), soltura (Cs) e corte (Cc).  
43    Essas notas diferem quanto a duração, o número de pulsos por canto e a frequência  
44    fundamental (Fh1). Foi observada uma grande variação na estrutura física da nota A,  
45    que apresentou até seis frequências harmônicas (Fh), sendo de uma a três visíveis e de  
46    duas a três não visíveis. A maior intensidade sonora foi registrada entre o Fh3 (1,27  
47    kHz) e Fh4 (1,68 kHz). A nota teve duração média de 237,63 ms e em média 371,57  
48    pulsos. A nota A pode ocorrer em conjunto com a nota T, neste caso alterando suas  
49    características físicas. As modulações de frequência nas notas A foram tanto  
50    ascendentes como descendentes e localizadas em qualquer região da nota. Desta  
51    maneira, identificamos pelo menos 22 formas diferentes de emissão do canto de  
52    anúncio. A função desta variação e de cada um dos padrões observados ainda não está  
53    clara, mas já torna esta espécie um excelente modelo para experimentação, visto que,  
54    até onde sabemos, apenas outras duas espécies de anuros também podem realizar tais  
55    acrobacias vocais.

56

57    PALAVRAS CHAVE: Amphibia, *Physalaemus*, vocalização, variação, canto de  
58    anúncio.

59

## 60 Introdução

61 A produção de sons em anuros é primariamente uma forma de indicar a presença  
62 de um indivíduo a outros da mesma espécie (Duellman & Trueb 1994). Entre os  
63 anfíbios anuros a vocalização é o mais difundido e estudado mecanismo de  
64 comunicação (Ryan 2001), e é desenvolvida principalmente em ocasiões onde a visão é  
65 limitada (Haddad & Giaretta 1999).

66 Além de indicar a presença e localização de um indivíduo, a vocalização pode  
67 ter diversas funções como a atração de parceiros sexuais (Haddad & Cardoso 1992;  
68 Duellman & Trueb 1994; Schwartz 1994; Brenowitz & Rose 1999; Lingnau et al. 2004)  
69 e como mecanismo de isolamento reprodutivo pré-zigótico (Oldham & Gerhardt 1975;  
70 Wells 1977; Etges 1987; Cardoso & Viellard 1990; Bourne & York 2001). Também faz  
71 parte de interações agressivas, relativas à defesa ou disputa de recursos limitados, como  
72 sítios de desova (Martins et al. 1998) e de vocalização (Wells 1988; Bastos & Haddad  
73 2001; Castellano et al. 2002; Guimarães & Bastos 2003; Lingnau et al. 2004). Neste  
74 contexto, a vocalização pode ser capaz de definir vencedores em duelos antes mesmo de  
75 haver interações físicas (Bastos & Haddad 2002; Wogel et al. 2002; Toledo & Haddad  
76 2005; Brasileiro & Martins 2006), as quais podem levar a altos gastos energéticos  
77 (Martins et al. 1998), injúrias (Martins et al. 1998), ou mesmo morte dos indivíduos  
78 (Lutz 1960).

79 Algumas espécies de anuros apresentam uma gama ampla de repertório vocal,  
80 emitindo cantos distintos, dependendo do contexto social (Wells 1977; Castellano et al.  
81 2002; Bastos et al. 2003; Guimarães & Bastos 2003; Lingnau & Bastos 2003; Lingnau  
82 et al. 2004; Wogel et al. 2004; Toledo & Haddad 2005; Costa et al. 2006; Hartmann et  
83 al. 2006; Lingnau & Bastos 2007) que pode sofrer influências devido a fatores abióticos

84 (Navas & Bevier 2001; Guimarães & Bastos 2003; Toledo & Haddad 2005; Lingnau &  
85 Bastos 2007), o tamanho dos agregados reprodutivos (Wagner 1989, Boatright-  
86 Horowitz et al. 2000) e a distância do macho cantor mais próximo (Wagner 1989). Com  
87 relação aos fatores abióticos, diversos autores mostraram que as vocalizações podem  
88 sofrer influência da temperatura (Navas & Bevier 2001, Guimarães & Bastos 2003;  
89 Toledo & Haddad 2005; Lingnau & Bastos 2007), podendo alterar a taxa de repetição  
90 do canto (Bastos & Haddad 1995), o número e a duração das notas (Guimarães &  
91 Bastos 2003) e a duração do canto (Lingnau & Bastos 2007).

92 Apesar destas variações que podem ocorrer nas vocalizações, de forma geral os  
93 machos de anuros produzem vocalizações estereotipadas (Narins et al. 2000). Este  
94 padrão estereotipado pode conferir um aumento na capacidade de indicar a localização  
95 do emissor e imunidade da vocalização a ruídos (Narins et al. 2000), o que pode ser  
96 vantajoso quando da formação de agregados reprodutivos em ambientes com altos  
97 índices de ruído.

98 O canto de anúncio da maioria das espécies de anuros é constituído de uma nota  
99 única (e.g., *Hylodes heyeri* Haddad, Pombal & Bastos 1996 – Lingnau & Bastos 2007;  
100 *Scinax fuscomarginatus* (Lutz 1925) – Toledo & Haddad 2005), no entanto, algumas  
101 espécies podem apresentar maior complexidade no canto de anúncio (Narins &  
102 Capranica 1978; Ryan & Ryan 1981; Ryan 1983; Narins et al. 2000; Gridi-Papp et al.  
103 2006). Por exemplo, para algumas espécies foram descritas de duas a três notas no canto  
104 de anúncio, como em *Dendropsophus minutus* (Peters 1872) (Haddad & Cardoso,  
105 1992), *Eleutherodactylus coqui* Thomas 1966 (Narins & Capranica 1978) e  
106 *Engystomops pustulosus* Lynch 1970 (Ryan & Ryan 1981; Ryan 1983; Gridi-Papp et al.  
107 2006). Para outras espécies foram observadas desde notas simples até múltiplas, como

108 em *Polypedates leucomystax* (Gravenhorst 1829) (Christensen-Dalsgaard et al. 2002;  
109 Narins et al. 1998; 2000) e *Smilisca sila* Duellman & Trueb 1966 (Tuttle & Ryan 1982).

110 Para as espécies do grupo *P. signifer* já foram publicados quatro diferentes tipos  
111 de canto. O canto de anúncio é conhecido para 12 das 13 espécies deste grupo (*P.*  
112 *angrensis* Weber, Gonzaga & Carvalho e Silva 2006, *P. atlanticus* Haddad & Sazima,  
113 2004, *P. bokermanni* Cardoso & Haddad 1985, *P. camacan* Pimenta, Cruz & Silvano  
114 2005, *P. crombiei* Heyer & Wolf 1989, *P. irroratus* Cruz, Nascimento & Feio 2007, *P.*  
115 *maculiventris* (Lutz, 1925), *P. moreirae* (Miranda-Ribeiro 1937), *P. nanus* (Boulenger  
116 1888), *P. obtectus* Bokermann 1966, *P. signifer* (Girard 1853), *P. spiniger* (Miranda-  
117 Ribeiro 1926) (ver Cruz et al. 2007; Heyer & Wolf 1989; Heyer et al. 1990; Haddad &  
118 Pombal 1998; Pimenta et al. 2005; Pombal & Madureira 1997; Weber et al. 2005). Para  
119 *P. nanus*, há um segundo canto descrito além do canto de anúncio, porém os autores não  
120 apresentam o contexto em que esta vocalização foi emitida (Haddad & Pombal 1998).  
121 Para *P. signifer*, além do canto de anúncio, são descritos também os cantos territorial e o  
122 canto de briga (Wogel et al. 2002). Para *P. spiniger*, além do canto de anúncio, foi  
123 descrito também o canto de encontro (Haddad & Pombal 1998). Para as demais espécies  
124 do grupo não há outros cantos descritos.

125 Sendo assim, os objetivos deste trabalho foram: 1) identificar os diferentes tipos  
126 de vocalização de *Physalaemus spiniger* e seus contextos de emissão, 2) verificar a  
127 influência dos fatores abióticos nas vocalizações.

## 128 Métodos

### 129 Área de estudo

130 A área de estudo está inserida na RPPN Reserva Natural Salto Morato (RNSM),  
131 no município de Guaraqueçaba, Paraná, sul do Brasil (25°10'56.61''S a

132 48°17'51.80"W). Além desta área, foram realizadas observações em uma propriedade  
133 particular vizinha à RNSM (25°11'7.04"S a 48°17'50.91"W). Ambas as áreas  
134 pertencentes à Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba, dentro do bioma Mata  
135 Atlântica em área com Floresta Ombrófila Densa Submontana (FBPN, 2001).

136 O clima é subtropical úmido, os verões são quentes e as geadas pouco freqüentes  
137 com uma tendência da concentração das chuvas nos meses de verão (entre dezembro e  
138 fevereiro), no entanto sem uma estação seca bem definida. Os índices pluviométricos  
139 mostram mais de 2000 mm anuais e a umidade relativa do ar média anual é de 85 %  
140 (FBPN, 2001).

141 Os ambientes amostrados foram: Estrada da Figueira, que é pouco utilizada por  
142 automóveis, onde ocorre o acúmulo de água em poças longas, estreitas e rasas, além de  
143 poças adjacentes; Pastagem na propriedade particular vizinha, que teve o solo revolvido  
144 com arado para a derrubada de *Braquiaria* sp., onde formaram-se valetas e a água se  
145 acumula sob a vegetação gramínea baixa; e áreas planas e abertas, cobertas com  
146 vegetação baixa e rasteira próximas ao alojamento.

147 As atividades de campo ocorreram entre os meses de agosto e novembro de 2008  
148 e fevereiro e agosto de 2009. As vocalizações de *P. spiniger* foram gravadas com um  
149 gravador cassete manual (Mega Star TCM 85) e microfone cardióide (Shure 8700), a  
150 uma distância de aproximadamente 50 cm dos machos cantores. As vocalizações foram  
151 gravadas em fita cassete em velocidade normal (4,8 cm/s). Em seguida foram  
152 digitalizadas a 44 kHz e 16 bits de resolução. Foram analisadas pelo software Raven Pro  
153 1.3, sendo que a configuração adotada para análise foi: brilho a 80 %, contraste a 80 % e  
154 512 de FFT. A terminologia usada na descrição segue a apresentada em Toledo &  
155 Haddad (2005) e as notas podem ser consideradas simples (quando formadas por

156 somente uma nota) ou compostas (quando formadas por duas notas, sem intervalos entre  
157 elas).

158 Harmônicos (Fh) que tem maior intensidade acústica, portanto visíveis no  
159 espectrograma, foram denominados de harmônicos visíveis. Os que possuem baixa  
160 intensidade e não visíveis no espectrograma foram denominados de harmônicos não são  
161 visíveis.

162 Para a descrição dos parâmetros acústicos, tais como duração da nota, número de  
163 pulsos e frequência dominante foram analisados sempre os harmônicos visíveis.

164 A frequência fundamental e os harmônicos não visíveis foram determinados pela  
165 fórmula:  $Fhn = Fh_1 \cdot n$ , onde  $Fh_1$  é a frequência harmônica fundamental e  $n$  um número  
166 inteiro (Tipler 1991). Os parâmetros acústicos são apresentados no formato de média  $\pm$   
167 desvio padrão.

168 Alguns parâmetros das vocalizações (duração da nota, frequência fundamental e  
169 frequência dominante) foram relacionados à temperatura do ar no momento da gravação  
170 e características físicas do macho em atividade de vocalização (CRC e massa), para  
171 identificar a presença de correlação entre os fatores ambientais e/ou morfológicos nos  
172 padrões da vocalização.

173 Quanto à influência de fatores extrínsecos, foram analisadas 90 notas de  
174 anúncio, em quatro temperaturas diferentes (17,3; 18; 18,9 e 19,6 °C). Quanto aos  
175 fatores intrínsecos, em relação ao comprimento rostro-cloacal (CRC), foram analisadas  
176 75 notas de anúncio de seis indivíduos (16,92; 17,24; 17,3; 18,26; 18,45; 19,25 mm ) e  
177 com relação à massa, foram analisadas 57 notas de anúncio de cinco indivíduos (0,42;  
178 0,49; 0,55; 0,70; 0,77 g).

179 Para análise do canto de briga, foram utilizadas, além das gravações realizadas  
180 em Guaraqueçaba, gravações de uma população no Parque Estadual Ilha do Cardoso, no

181 estado de São Paulo, onde machos foram coletados em campo e colocados num mesmo  
182 saco plástico, quando iniciaram o comportamento e a vocalização de briga.

183 Para análise de antifonia, foram utilizadas, além das gravações realizadas em  
184 Guaraqueçaba, gravações de uma população na Ilha de Cananéia, Estado de São Paulo,  
185 cedidas por Juliana Zina.

186 As análises estatísticas foram realizadas com o software PAST 1.9 (Hammer et  
187 al. 2001). O teste *t*-student foi usado para comparação de médias, o teste qui-quadrado  
188 para comparação das frequências de ocorrência, análise univariada (ANOVA) para  
189 comparação entre as notas e o teste de correlação para verificar possíveis relações entre  
190 características das notas e os caracteres es bióticos e abióticos.

191 Quando coletados, os indivíduos foram seguros por uma das pernas pelos dedos  
192 da observadora e balançados para verificar a emissão de gritos de agonia. Para a  
193 observação do canto de corte foi criada uma situação experimental na qual indivíduos  
194 (machos e fêmeas) foram coletados no campo e posteriormente levados ao laboratório  
195 onde foram mantidos em terrário onde foram observados. As demais observações foram  
196 feitas sem manipulação.

## 197 Resultados

198 Foram registradas cinco vocalizações diferentes emitidas por *P. spiniger*: canto  
199 de anúncio (Ac), emitido com uma maior frequência quando os indivíduos estavam  
200 isolados ou em coros; canto territorial (Tc), emitido com maior frequência quando havia  
201 machos próximos, mas também emitido quando os machos cantores estavam isolados de  
202 outros machos; canto de briga (Fc), emitido durante combates físicos entre machos;  
203 canto de soltura (Rc), emitido quando os indivíduos foram manipulados, e canto de  
204 corte (Cc), emitido quando o macho estava amplexado à fêmea e havia machos  
205 próximos (Figura 1).

206 Em todos os casos tanto a frequência fundamental (Fh1) quanto o segundo  
207 harmônico (Fh2) não foram visíveis no espectrograma. As demais características dos  
208 cantos estão descritas a seguir:

209 Canto de anúncio (Ca)

210 Foram analisadas 204 notas, de 34 indivíduos diferentes, com uma média de  
211 5,83 (1 – 20) notas analisadas por indivíduo. O canto de anúncio é um canto simples e  
212 foi formado por somente uma nota. Esta apresentou pelo menos seis harmônicos, sendo  
213 de um a três visíveis e de dois a três não visíveis. A exceção de um único indivíduo que  
214 emitiu até oito harmônicos, sendo até seis não visíveis e de dois a três visíveis.  
215 Apresentou com maior frequência dois (91,89 %) harmônicos não visíveis e dois (81,98  
216 %) visíveis.

217 A frequência fundamental foi de  $0,42 \pm 0,05$  kHz e a maior intensidade sonora  
218 esteve distribuída entre o terceiro (39,59 %), quarto (54,82 %) e quinto (5,58 %)  
219 harmônicos. A duração média da nota foi de  $237,63 \pm 65,39$  ms e apresentou uma  
220 quantidade média de  $371,57 \pm 103,7$  pulsos por nota. A frequência dominante média do  
221 Fh3 (primeiro harmônico visível) foi de  $1,27 \pm 0,09$  kHz e do Fh4 (segundo harmônico  
222 visível) foi  $1,68 \pm 0,11$  kHz. Os valores detalhados destes harmônicos e os valores para  
223 os demais harmônicos se encontram na Tabela 1.

224 Foi comum a vocalização de anúncio em antifonia sempre que o coro foi  
225 formado por dois machos ou mais. Foi possível a identificação de até três indivíduos em  
226 antifonia. Quando havia mais de dois indivíduos em antifonia, estes emitiram cantos em  
227 uma seqüência constante. Isto é, primeiro o indivíduo 1, em seguida o indivíduo 2, em  
228 seguida o indivíduo 3 e este ciclo se repetia ao longo do tempo. Quando em antifonia, o  
229 intervalo de emissão das notas ( $0,66 \pm 0,05$  s, n = 17) era menor do que quando os  
230 machos vocalizavam isoladamente ( $3,71 \pm 3,27$  s, n = 49) ( $t = -3,83$ ;  $P < 0,05$ ).

231 O canto de anúncio apresentou uma grande variação na sua estrutura física. O  
232 total de gravações foi de 2h12 e nelas puderam ser identificadas 22 configurações  
233 diferentes (Figura 2). As modulações de frequência observadas na nota A foram tanto  
234 ascendentes como descendentes e observadas no terço inicial, médio ou final delas. Um  
235 mesmo indivíduo pode apresentar mais de uma configuração do canto de anúncio e  
236 pode variar a frequência dominante.

237 A nota do canto de anúncio pode ser emitida isolada (A) ou em combinação com  
238 a nota territorial T, seja na sequência AT ou TA. Quando a nota de anúncio (A) ocorreu  
239 junto com outra territorial (T), em todos os casos ela possuiu maior duração que a nota  
240 T e em quase todos os casos (90,32 %) possuiu número de pulsos por nota maior que T  
241 ( $\chi^2 = 63,05$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,05$ ). Em 68,97 % dos casos onde ocorreu a nota A e T  
242 seguidas e sem intervalo, ocorreu uma modulação ascendente da nota A para a T ( $\chi^2 =$   
243 14,32;  $gl = 1$ ;  $P < 0,05$ ) (Figura 3).

#### 244 Canto territorial (Ct)

245 Foram analisadas 37 notas territoriais de oito indivíduos, sendo uma média de  
246 3,7 (1 – 11) cantos por indivíduo. O Ct é um canto composto e foi formado por uma (T)  
247 ou duas notas (AT ou TA). A nota T pode apresentar pelo menos seis harmônicos,  
248 sendo de dois (13,51%) a três (86,49%) visíveis e de dois (81,08%) a três (13,51%) não  
249 visíveis. Em 13,51 % dos casos o terceiro harmônico não foi visível.

250 A frequência fundamental foi de  $0,34 \text{ kHz} \pm 0,03$  e a maior intensidade sonora  
251 esteve distribuída entre o quarto (66,67 %) e quinto (16,67%) harmônicos. A duração  
252 média da nota foi de  $151,92 \pm 42,5 \text{ ms}$  e apresentou uma média de  $255,09 \pm 76,11$   
253 pulsos por nota. A frequência dominante média do Fh4 (primeiro visível) foi  $1,4 \pm 0,11$   
254 kHz e do Fh5 (segundo visível) foi  $1,74 \pm 0,14 \text{ kHz}$ . Os valores detalhados destes  
255 harmônicos e os valores para os demais harmônicos se encontram na Tabela 1.

256 A nota T foi emitida menos vezes isoladamente (30,61 %) que em conjunto com  
257 a nota A (90,39 %) ( $\chi^2= 19,7$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,05$ ), podendo haver (5,88 %) ou não (94,12  
258 %) um intervalo entre elas.

#### 259 Canto de briga (Cb)

260 Foram analisadas 34 notas de quatro indivíduos, sendo uma média de 7,75 (6 –  
261 11) cantos por indivíduo. O Cb é um canto composto formado por uma, duas ou três  
262 notas B. A nota B pode apresentar pelo menos sete harmônicos, sendo um (9,68%), dois  
263 (29,03%) ou três (70,97%) visíveis e dois (20%), três (56,67%) ou quatro (23,33%) não  
264 visíveis.

265 A duração média da nota foi de  $53,65 \pm 12,95$  ms e apresentou uma média de  
266  $102,09 \pm 42,17$  pulsos por nota. A frequência média da fundamental foi  $0,39 \pm 0,07$   
267 kHz, a frequência dominante média do Fh3 (primeiro visível) foi  $1,42 \pm 0,21$  kHz, do  
268 Fh4 (segundo visível) foi  $1,72 \pm 0,26$  kHz e do Fh5 (terceiro visível)  $1,95 \pm 0,39$  kHz.  
269 Os valores detalhados destes harmônicos e os valores para os demais harmônicos se  
270 encontram na Tabela 1.

#### 271 Canto de soltura (Cs)

272 Foram analisadas 18 notas de quatro indivíduos, sendo uma média de 4,5 (1 – 9)  
273 cantos por indivíduo. O Cs é um canto composto formado por uma a três notas S. A  
274 nota S pode apresentar pelo menos oito harmônicos, sendo dois (16,67%), três (50%) ou  
275 quatro (33,33%) visíveis e dois (16,67%), três (55,56%), quatro (22,22%) ou cinco  
276 (5,56%) não visíveis.

277 Na maioria das vezes (38,89 %) o harmônico de maior intensidade acústica foi o  
278 Fh5, seguindo de Fh4 (27,78%) e do Fh7 (16,67%). Os Fh2, Fh3 e Fh6 foram os de  
279 maior intensidade sonora em apenas 5,56% das vezes.

280 A duração média da nota R foi de  $23,72 \pm 4,81$  ms e apresentou  $62,05 \pm 17,84$   
281 pulsos por nota. A frequência dominante média da frequência fundamental é de  $0,46 \pm$   
282  $0,05$  kHz. A frequência dominante média do Fh4 (segundo visível) foi de  $1,9 \pm 0,19$   
283 kHz e do Fh5 (terceiro visível)  $2,3 \pm 0,27$  kHz. Os valores detalhados destes harmônicos  
284 e os valores para os demais harmônicos se encontram na Tabela 1.

#### 285 Canto de corte (Cc)

286 Foram analisados 13 cantos, de dois indivíduos, sendo uma média de 6,5 (3 –  
287 10) cantos por indivíduo. O Cc é um canto simples, formado por uma única nota C. A  
288 nota C foi emitida quando o macho estava em amplexo com uma fêmea na presença de  
289 outros machos (quando colocados em um terrário). A nota apresentou pelo menos seis  
290 harmônicos, sendo um (63%), dois (18%) ou três (18%) não visíveis e de cinco a oito  
291 visíveis. Na maioria das vezes (80%) o harmônico de maior intensidade acústica foi o  
292 terceiro harmônico visível.

293 A duração média da nota foi de  $251,46 \pm 59,35$  ms e apresentou  $80,23 \pm 11,65$   
294 pulsos por nota. A frequência média do Fh1 foi de  $0,266 \pm 0,82$  kHz. A frequência  
295 dominante média da nota foi  $1,62 \pm 0,52$  kHz. Os valores detalhados destes harmônicos  
296 se encontram na Tabela 1.

#### 297 Grito de agonia

298 Foram testados 10 machos para verificação da emissão do grito de agonia.  
299 Nenhum emitiu o grito, somente o canto de soltura quando gentilmente manipulados.

#### 300 Comparação entre as notas

301 Verificou-se que as cinco notas (A, T, B, S e C) diferem quanto a duração  
302 (ANOVA:  $F_{44,48} = 355,9$ ;  $P < 0,05$ ), o número de pulsos por canto (ANOVA:  $F_{70,08} =$

303 557,2;  $P < 0,05$ ) e a frequência fundamental (ANOVA:  $F_{43,61} = 77,98$ ;  $P < 0,05$ ). A  
304 comparação das notas, duas a duas, para cada uma das três características analisadas,  
305 pode ser encontrada na tabela 2.

306 A nota A foi mais longa quando seguida pela nota T [ $273,31 \pm 62,78$  ms (145 -  
307 392;  $n = 37$  indiv.;  $n = 32$  notas)] do que quando emitida isoladamente [ $228,76 \pm 64,35$   
308 ms (141 - 571;  $n = 37$  indiv.;  $n = 236$  notas)] ( $t = 3,75$ ;  $P < 0,05$ ) e possui mais pulsos  
309 por nota quando seguida pela nota T [ $435,14 \pm 97,34$  (243,6 - 618,28;  $n = 37$  indiv.;  $n =$   
310 32 notas)] do que quando sozinha [ $353,08 \pm 104,33$  (214,88 - 752,1;  $n = 37$  indiv.;  $n =$   
311 234 notas)] ( $t = 4,43$ ;  $P < 0,05$ ). A nota A possuiu frequência fundamental maior  
312 quando foi emitida isolada [ $0,43 \pm 0,03$  kHz (0,3 - 0,5; 175; 35)] do que quando seguida  
313 por T [ $0,41 \pm 0,04$  kHz (0,3 - 0,5; 29; 35)] ( $t = 2,14$ ;  $P < 0,05$ ). A nota T, não apresentou  
314 diferença quando emitida isolada ou em sequencia da nota A, para nenhuma das  
315 características analisadas (duração, número de pulsos por nota e frequência  
316 fundamental).

### 317 Resultados de Correlação

318 A duração da nota apresentou correlação negativa com relação à temperatura do  
319 ar no momento da gravação e à massa corpórea do cantor, e positiva com relação ao  
320 CRC do cantor. A frequência dominante da nota de anúncio, a frequência dominante do  
321 primeiro harmônico visível e do segundo visível apresentaram correlação negativa para  
322 todos os fatores testados. A frequência fundamental independe dos fatores testados  
323 (massa, CRC e temperatura). Os valores das correlações podem ser encontrados na  
324 tabela 3.

325 Combinação de notas em cantos compostos

326 *Physalaemus spiniger* emitiu as notas A, T, B, S e C (Figura 1) e estas podem vir  
327 nas seguintes combinações: Nota A, isolada em 88,08 % das vezes, e junto com a T em  
328 11,94 % das vezes; Nota T isolada em 13,51 % das vezes e junto da nota A em 86,49 %  
329 das vezes; Quando a nota A foi emitida junto com a nota T em 96,87% a nota A precede  
330 a nota T (AT) (Figura 3) e em 3,12 % das vezes a nota T precede a nota A (TA); A nota  
331 B foi emitida isolada em 28,57% das vezes, em seqüência de duas notas em 39,29% e  
332 em seqüência de três notas em 32,14% das vezes; e a nota S foi emitida isolada ou em  
333 conjunto de duas ou três notas em seqüência com intervalos entre elas ou em duas notas  
334 seguidas, sem intervalo (SS) (Devido ao baixo número de registros destas notas, não foi  
335 calculada a porcentagem de emissão de cada uma das combinações).

336 Discussão

337 Este trabalho apresenta a descrição de três cantos ainda não registrados para *P.*  
338 *spiniger* (cantos de briga, soltura e corte) e apresenta pela primeira vez uma nota de  
339 soltura emitida por uma espécie do grupo *P. signifer*.

340 Barrio (1965) classificou os cantos de anúncio das espécies de *Physalaemus* em  
341 quatro tipos. O tipo A é formado por notas longas (0,5 a 1,5 segundos) com harmônicos,  
342 com uma modulação de freqüência ascendente e descendente no início da nota; o tipo B  
343 é também formado por notas longas, com menos harmônicos que o tipo A, uma  
344 freqüência fundamental mais alta e modulação de freqüência ascendente; o tipo C é de  
345 notas curtas com harmônicos e com modulação de freqüência descendente; e o tipo D é  
346 uma nota curta, rápida, com pulsos e sem harmônicos, similar a um ruído.

347 Segundo a classificação de Barrio (1965), *P. spiniger* apresenta notas dos tipos  
348 B, C e D. A nota de anúncio (aqui chamada de A, ou Ca quando se trata do canto de

349 anúncio) corresponde a do tipo B, a territorial (aqui chamada de T ou Ct quando se trata  
350 do canto territorial) corresponde ao tipo C e a de briga (aqui chamada de F ou Fc  
351 quando se trata do canto de briga) corresponde ao tipo D. O tipo A de Barrio (1965)  
352 parece corresponder a uma das conformações (Figura 2u,v) da nota de anúncio, que  
353 ocorre com até mais do que o dobro da duração da média, porém, sem a alteração no  
354 número de harmônicos.

355 O canto de encontro, descrito em Haddad & Pombal (1998), é o que  
356 denominamos aqui de notas A e T emitidas em seqüência, sem intervalo (AT). Segundo  
357 a figura apresentada em Haddad & Pombal (1998) a modulação é ascendente entre o  
358 que eles chamam de primeira parte (parecido com a nota de anúncio) e a segunda parte,  
359 que possui uma taxa de pulsos menor que a primeira. O mesmo foi encontrado por nós.

360 O canto de *P. spiniger* é diferente do emitido por *P. nanus* e *P. atlanticus* (as três  
361 espécies morfologicamente crípticas) conforme já discutido em Haddad & Pombal  
362 (1998) e Haddad & Sazima (2004). *Physalaemus spiniger* apresenta a nota de anúncio  
363 de menor duração, frequências mais altas e taxa de pulsos/nota mais alta que *P.*  
364 *atlanticus* (Haddad & Sazima 2004) e duração maior que *P. nanus*, além da estrutura do  
365 canto de *P. nanus* que é composto por sete a nove notas, enquanto em *P. spiniger* é  
366 composto por uma única nota pulsionada (Haddad & Pombal 1998).

367 Uma variação da estrutura das notas de anúncio foi evidenciada, ressaltando que  
368 quando dois machos estão vocalizando, um deles emite a nota sem modulações em seu  
369 início, enquanto o segundo macho realiza modulação descendente e ascendente no  
370 início da vocalização (Haddad & Pombal 1998). Na população de Guaraqueçaba,  
371 encontramos situação semelhante, sendo que a modulação na nota ocorreu no final e não  
372 no início e somente de forma ascendente. Nesta mesma situação, um dos machos  
373 mantém a frequência sem modulações e distribui a intensidade sonora entre os mesmos

374 harmônicos, enquanto o outro macho emite as notas A e T seguidas e sem intervalo. Os  
375 machos podem ser individualizados pela frequência dos seus harmônicos e a  
376 distribuição da intensidade sonora. Não foi possível observar o comportamento desses  
377 machos para verificar qual deles foi o residente e qual o visitante e nem qual venceu o  
378 conflito.

379 Modulações como as citadas por Haddad & Pombal (1998) também foram  
380 encontradas na população analisada (Figura 2a) e além desta variação, foram  
381 encontradas outras 21 estruturas diferentes de modulação (Figura 2). A grande variação  
382 na estrutura de modulação da nota de anúncio é rara em anuros e seu significado ainda  
383 não é compreendido (Schwartz 1994).

384 O canto de corte foi descrito para diversas espécies de anuros (e. g., Toledo et al.  
385 2004; Zina & Haddad 2005; Owen & Tucker 2006; Lingnau & Bastos 2007; Oliveira  
386 Filho & Giaretta 2008). A estrutura deste canto pode ser parecida com a estrutura do  
387 canto de anúncio, como em *Ameerega flavopicta* (Lutz, 1925) (Toledo et al. 2004),  
388 *Hylodes heyeri* (Lingnau & Bastos 2007), *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799)  
389 (Freitas et al. 2001), *Pseudacris illinoensis* Smith, 1951 e *P. triseriata* (Wied-Neuwied,  
390 1838) (Owen & Tucker, 2006), ou distinta como em *Leptodactylus furnarius* Sazima  
391 and Bokermann, 1978, *L. mystacinus* (Burmeister, 1861) (Oliveira Filho & Giaretta  
392 2008), e *L. labyrinthicus* (Spix, 1824) (Zina & Haddad 2005). Em *Physalaemus*  
393 *spiniger* o canto de corte apresenta frequência fundamental e número de pulsos menores  
394 que o canto de anúncio. O canto de corte com frequência fundamental menor que o  
395 canto de anúncio também ocorre em *Pseudacris illinoensis* e *P. triseriata* (Owen &  
396 Tucker 2006) e o inverso ocorre em *L. mystacinus*, onde o canto de corte apresenta  
397 frequência fundamental maior que o canto de anúncio (Oliveira Filho & Giaretta 2008).  
398 O canto de corte de *Physalaemus spiniger* não difere do de anúncio quanto a duração,

399 mas em *L. labyrinthicus*, a duração do canto de corte é menor que o de anúncio (Zina &  
400 Haddad 2005) e em *Pseudacris illinoensis* o canto de corte tem duração maior que o  
401 canto de anúncio (Owen & Tucker 2006). A taxa de repetição do canto de corte é  
402 frequentemente maior que o canto de anúncio (Zina & Haddad 2005; Owen & Tucker  
403 2006; Lingnau & Bastos 2007; Oliveira Filho & Giaretta 2008), mas isso não pode ser  
404 observado em *P. spiniger* devido ao baixo número de emissões do canto de corte. Em  
405 geral, o canto de corte é emitido quando o macho está próximo à fêmea (Lingnau &  
406 Bastos 2007; Oliveira Filho & Giaretta 2008; Owen & Tucker 2006; Toledo et al. 2004;  
407 Zina & Haddad 2005), mas em *P. spiniger* o macho emite o canto de corte quando está  
408 amplectado a fêmea.

409        Quanto ao grito de agonia, oito espécies [*Eupemphix nattereri* Steindachner,  
410 1863, *P. cuvieri* Fitzinger, 1826, *P. marmoratus* (Reinhardt & Lütken, 1862,  
411 *Physalaemus* cf. *nanus*, *P. nanus* (Boulenger, 1888), *P. olfersii* (Lichtenstein & Martens  
412 1856), *Physalaemus* sp. (gr. *cuvieri*) e *Pseudopaludicola* cf. *saltica*] da família  
413 Leiuperidae foram testadas, porém nenhuma delas realizou tal grito (Toledo & Haddad  
414 2009). Das espécies que realizaram o grito de agonia, a maioria possuía comprimento  
415 rostro cloacal entre 30 e 60 mm, sendo que somente duas das 33 espécies que emitiram  
416 o grito de agonia possuíam menos de 30 mm (*Cycloramphus* sp. e *Dendropsophus*  
417 *minutus* (Peters, 1872) (Toledo & Haddad 2009). Os autores sugerem que alguns grupos  
418 perderam a capacidade de realizar o grito de agonia, uma vez que o tamanho dos  
419 indivíduos é um fator determinante para a sua presença (Toledo & Haddad 2009). Este  
420 pode ser o caso de *P. spiniger* para o qual não foi registrado nenhum grito de agonia  
421 para os dez indivíduos testados e, de forma geral, a espécie não ultrapassa 25 mm de  
422 comprimento rostro-cloacal (presente estudo; Haddad et al. 1998).

423 A relação da temperatura com a duração das notas é inversa por questões  
424 energéticas (Navas & Bevier 2001). A vocalização envolve gasto de energia, pois para a  
425 sua produção ocorre contração muscular e a temperatura pode afetar a atividade  
426 muscular (Navas & Bevier 2001). Então, para manter a efetividade da vocalização em  
427 temperaturas baixas, ocorre um aumento na duração das notas e uma redução na taxa de  
428 repetição (Navas & Bevier 2001). Relações entre taxa de repetição e a temperatura já  
429 foram encontradas para outras espécies (Sullivan & Malmos 1994; Giacoma et al. 1997;  
430 Navas & Bevier 2001), porém não ocorreu com *P. spiniger* neste estudo.

431 Aparentemente não há explicação biológica para a frequência dominante variar  
432 de acordo com a temperatura do ar. O que possivelmente explica esta relação pode ser a  
433 forte correlação entre as variáveis de temperatura e massa dos indivíduos capturados.  
434 Não que esta correlação tenha sentido biológico e sim somente que os dados coletados  
435 têm este viés. Então possivelmente o fator que explica a variação da frequência  
436 dominante é a massa dos indivíduos e não a temperatura do ar no momento da gravação.

437 No entanto, a variação das frequências dos cantos em ocasionada por de fatores  
438 intrínsecos (CRC e massa dos machos em atividade de vocalização), seguem o  
439 esperado: indivíduos maiores e mais pesados produzem sons de frequências mais baixas  
440 (Giacoma et al. 1997; Márquez & Bosh 2001, Toledo & Haddad 2009). Com relação à  
441 duração é esperado que indivíduos maiores produzam notas mais longas, dada a relação  
442 alométrica entre tamanho do corpo e tamanho dos pulmões, e do tamanho dos pulmões  
443 com a capacidade e retenção de ar (Toledo & Haddad 2009). Isto é, quanto maior o  
444 indivíduo maior a capacidade de reter mais ar e sua capacidade de emitir notas mais  
445 longas. Já a relação negativa entre a massa corporal e a duração da nota é diferente do  
446 esperado e pode ter sido causada pelo pequeno número de indivíduos pesados (uma vez  
447 que quando retirado da análise de correlação do CRC x duração da nota o indivíduo que

448 não teve sua massa mensurada, esta relação entre as variáveis deixa de ser positiva e  
449 passa a ser negativa).

450 A vocalização em antifonia é uma estratégia comportamental utilizada para  
451 reduzir a sobreposição de cantos de machos coespecíficos próximos (Schwartz 1994;  
452 Wogel et al. 2002). Para isso, podem aumentar ou encurtar o intervalo entre cantos ou  
453 parar repentinamente, retornando a vocalizar em antifonia com o macho coespecífico  
454 (Wogel et al. 2002). Esse mecanismo parece estar relacionado à densidade populacional  
455 (Cardoso & Martins 1987), mas para *P. signifer* esta relação não ocorre, uma vez que  
456 machos vocalizam em antifonia mesmo com apenas dois indivíduos na poça (ver  
457 também Wogel et al. 2002). Este comportamento só havia sido documentado para duas  
458 espécies deste gênero: *P. cuvieri* (Barreto & Andrade 1995) e *P. signifer* (Wogel et al.  
459 2002). E da mesma forma que *P. signifer*, *P. spiniger* vocalizou em antifonia mesmo na  
460 presença de somente dois machos.

461 Acrobacias vocais foram descritas para algumas espécies como *Odorrana*  
462 *tormota* (Wu 1977), uma espécie de ranídeo chinesa, que é capaz de variar  
463 enormemente a duração da nota (50 a 400 ms) e as modulações de frequência durante a  
464 execução da nota (Feng et al. 2002). Esta espécie é ainda capaz de estender sua  
465 vocalização a escalas ultrassônicas (> 20 kHz) (Feng et al. 2006), ou em frequências  
466 altas (16 kHz). A habilidade desta espécie pode estar associada a estrutura do seu  
467 aparelho vocal (Feng et al. 2002; 2006). Para *Boophis madagascariensis* (Peters 1874),  
468 da família Manteliidae, espécie endêmica de Madagascar, foram descritos 28 tipos  
469 diferentes de notas de anúncio em um total de 24 h de gravação (Narins et al. 2000).  
470 Sendo que, um mesmo macho foi capaz de emitir 14 diferentes tipos de notas (Narins et  
471 al. 2000). Após uma análise morfológica na estrutura muscular vocal desta espécie,  
472 verificou-se que algumas adaptações incomuns podem estar favorecendo a espécie à

473 tamanha articulação vocal (Narins et al. 2000). No entanto os autores, não descartam a  
474 possibilidade de que este repertório vocal extenso seja produto de variações no circuito  
475 neural que se comunica com a laringe (Narins et al. 2000). As acrobacias vocais  
476 produzidas por *P. spiniger*, dada pela variação no canto de anúncio, pode ter relação  
477 com o circuito neural, ou com seu aparelho fonador, porém, outros estudos são  
478 necessários para que sejam feitas especulações neste sentido.

479         Modulações de frequência do canto de anúncio foram encontrada em menor  
480 quantidade para espécies de Cicloranfídeos (Opazo et al. 2009) em que foram  
481 identificados quatro padrões de modulação da nota de anúncio, além de variações entre  
482 e intraindividuais. No entanto ainda não se sabe a função destes padrões de variação,  
483 mas o que ocorre com *Eupsophus queulensis* Veloso, Celis-Diez, Guerrero, Méndez-  
484 Torres, Iturra-C. & Simonetti, 2005 contribui para uma relação de que espécies que  
485 habitam ambientes barulhentos apresentam padrões de modulação de forma a facilitar a  
486 comunicação (Opazo et al. 2009). Mas este não parece ser o caso de *P. spiniger*, que  
487 aparentemente não apresenta padrões entre as modulações, e não habita riachos nem  
488 ambientes ruidosos. O repertório curto, pouco variável e estereotipado de notas é comum  
489 em muitas espécies de hilídeos e leptodactílideos (Ryan 1980; Narins et al. 2000).  
490 Porém, a habilidade vocal dos Mantelliidae em combinar diversas notas dentro de um  
491 repertório extenso é incomum, mas não exclusiva (Narins et al. 2000). O número de  
492 notas no repertório vocal reflete a pressão de seleção na promoção do isolamento  
493 reprodutivo entre as espécies, o ambiente e o desenvolvimento do comportamento social  
494 (Capranica 1976). Por outro lado, a variação sonora pode estar atuando como uma  
495 ferramenta de reconhecimento individual, mantendo o código de reconhecimento  
496 específico (Vielliard 2004). Dentro da família Leiuperidae, *Engystomops pustulosus*  
497 apresenta canto de anúncio composto por dois componentes: o “whine” e o “chuck”. O

498 “whine” está sempre presente e pode estar seguido de zero a seis “chucks” (Rand &  
499 Ryan 1981). Foi demonstrado que as fêmeas preferem machos com cantos mais  
500 complexos, que é dado pela adição de “chucks” (Rand & Ryan 1981). Ademais, a  
501 espécie é capaz de aumentar a complexidade do seu canto de anúncio, incluindo  
502 “chucks” quando o competidor apresenta a frequência do “whine” similar ou mais alta  
503 que a sua própria (Bosh et al. 2000). Já se sabe que em *E. pustulosus*, certa habilidade  
504 vocal é associada a morfologia do aparelho fonador (Gridi-Papp et al. 2006), a presença  
505 de uma massa fibrosa anexa às cordas vocais caracteriza a produção da nota “chuck”, e  
506 a habilidade de produção da nota é alterada pela remoção desta massa (Gridi-Papp et al.  
507 2006). Mas este não parece ser o caso de *P. spiniger*, já que as notas, apesar de  
508 variáveis, não são tão distintas quanto o *whine* e o *chuck* de *E. pustulosus*.  
509 Aparentemente, a habilidade vocal de *P. spiniger* está associada à morfologia do seu  
510 aparelho vocal, ou à variação individual do canto.

511 O aumento da complexidade vocal, dado pela adição de “chucks” em *E.*  
512 *pustulosus*, favorece os indivíduos de cantos mais complexos na seleção pelas fêmeas  
513 (Rand & Ryan 1981). Porém, a adição de “chucks” aumenta a duração do canto e  
514 também favorece a localização do macho por predadores auditivamente orientados  
515 (Ryan et al. 1982). A complexidade da nota de anúncio de *Physalaemus spiniger* não se  
516 dá pela adição de outras notas, exceto quando em uma situação de disputa territorial  
517 (nota A seguida de T sem intervalo –AT). Neste sentido, o aumento da complexidade  
518 dada pelas diferentes conformações da nota de anúncio pode estar favorecendo os  
519 machos no sentido da seleção sexual, indicando suas características (tamanho e peso) e  
520 os identificando individualmente.

521

522 Agradecimentos:

523 Agradecemos a Juliana Zina pelo empréstimo de gravações. A Capes e a Fapesp  
524 (proc. no. 2008/50325-5 e 2008/52847-9), pelo auxílio e pelas bolsas de estudos e a  
525 FBPN pelo apoio logístico. Ao ICMBio pela licença de coleta (licença nº 16461-1,  
526 código de autenticação 24171151).

527 Referências

- 528 Barreto L. & Andrade, G.V. (1995) Aspects of the reproductive biology of *Physalaemus*  
529 *cuvieri* (Anura: Leptodactylidae) in northeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*,  
530 **16**(1), 67-76.
- 531 Barrio, A. (1965) El género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina.  
532 *Physis* **25**, 421-448.
- 533 Bastos R.P. & Haddad C.F.B. (1995) Vocalizações e interações acústicas de *Hyla*  
534 *elegans* (Anura, Hylidae) durante a atividade reprodutiva. *Naturalia* **20**, 165-176
- 535 Bastos R.P. & Haddad C.F.B. (2001) Larvas de *Scinax rizibilis* (Bokermann) (Anura,  
536 Hylidae): avaliando o efeito parental. *Revista Brasileira de Zoologia* **18**, 1127-  
537 1133.
- 538 Bastos R.P. & Haddad C.F.B. (2002) Acoustic and aggressive interactions in *Scinax*  
539 *rizibilis* (Anura: Hylidae) during the reproductive activity in southeastern Brazil.  
540 *Amphibia-Reptilia* **23**, 97-104.
- 541 Bastos R.P., Bueno M.A.F., Dutra S.L. & Lima L.P. (2003) Padrões de vocalização de  
542 anúncio em cinco espécies de Hylidae (Amphibia: Anura) do Brasil Central.  
543 *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS* **16**, 39-51.

- 544 Boatright-Horowitz S.L., Horowitz S.S., & Simmons A.M. (2000) Patterns of vocal  
545 interactions in a bullfrog (*Rana catesbeiana*) chorus: preferential responding to  
546 far neighbors. *Ethology* **106**, 701-712.
- 547 Bosch J., Rand A.S. & Ryan M.J. (2000) Acoustic competition in *Physalaemus*  
548 *pustulosus*, a differential response to calls of relative frequency. *Ethology* **106**,  
549 865-871.
- 550 Bourne G.R. & York H. (2001) Vocal behaviors are related to nonrandom structure of  
551 anuran breeding assemblages in Guyana. *Ethology, Ecology and Evolution* **13**,  
552 313-329.
- 553 Brasileiro C.A. & Martins M. (2006) Breeding biology of *Physalaemus centralis*  
554 Bokermann, 1962 (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil *Journal of*  
555 *Natural History*, **40**(17–18), 1199–1209.
- 556 Brenowitz E.A. & Rose G.J. (1999) Female choice and plasticity of male calling  
557 behaviour in the Pacific treefrog (*Hyla regilia*). *Ethology* **57**, 1337-1342.
- 558 Capranica, R.R. (1976). The auditory system. In *Physiology of the amphibia* III: 443-  
559 466. Lofts, B. (Ed.). New York: Academic Press.
- 560 Cardoso A.J. & Viellard, J. 1990 Vocalizações de anfíbios anuros de um ambiente  
561 aberto, em Cruzeiro do sul, Estado do Acre. *Revista Brasileira de Biologia* **50**,  
562 229-242.
- 563 Cardoso, A.J. & Martins J.E. (1987) Diversidade de anuros durante o turno de  
564 vocalizações, em comunidade neotropical. *Papéis avulsos de Zoologia* **36**(23),  
565 270-285.
- 566 Castellano, S., Tontini, L. Giacoma C. Lattes, A. & Balletto, E. (2002). The evolution  
567 of release and advertisement calls in green toads (*Bufo viridis* complex).  
568 *Biological Journal of the Linnean Society* **77**, 379-391.

- 569 Christensen-Dalsgaard, J., Ludwig, T.A. & Narins, P.M. (2002) Call diversity in an Old  
570 World treefrog: level dependence and latency of acoustic responses.  
571 *Bioacoustics* **13**, 80.
- 572 Costa, R.C., Facure, K.G. & Giaretta, A.A. (2006) Courtship, vocalization, and tadpole  
573 description of *Epipedobates flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) in southern  
574 Goiás, Brazil." *Biota Neotropica* **6**(1).
- 575 Cruz, A.G.C. Nascimento, L.B. & Feio, R.N. (2007) A new specie of the genus  
576 *Physalaemus* Fitzinger 1826 (Anura: Leuiperidae) from southeastern Brasil.  
577 *Amphibia-Reptilia* **28**, 457-465.
- 578 Duellman W.E. & Trueb L. (1994) *Biology of amphibians* Johns Hopkins University  
579 Press.Maryland 670p.
- 580 Etges, W.J. (1987) Call site choice in male anurans. *Copeia* 910-923.
- 581 FBPN (2001) Fundação O Boticário de Proteção da Natureza. Reserva Natural Salto  
582 Morato - Plano de Manejo. Versão preliminar. São José dos Pinhais.
- 583 Feng, A.S. Narins P.M. & Xu , C. (2002) Vocal acrobatics in a Chinese frog, *Amolops*  
584 *tormotus*. *Naturwissenschaften* **89**, 352–356.
- 585 Feng, A.S., Narins, P.M., Xu, C.H., Lin, W.Y., Yu, Z.L., Qiu, Q., Xu, Z.M. & Shen. J.  
586 X. (2006) Ultrasonic communication in frogs. *Nature* **440**, 333-336.
- 587 Freitas, E.F.L. de, Spirandeli-Cruz, E.F. & Jim, J. (2001) Comportamneto reprodutivo  
588 de *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) (Anura: Leptodactylidae)  
589 *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS* **14**(2), 121-132.
- 590 Gridi-Papp, M., Rand A.S. & Ryan M.J. (2006) Complex call productions in the túngara  
591 frog. *Nature* **441**.

- 592 Guimarães, D.L. & Bastos, R.P. (2003). Vocalizações e interações acústicas em *Hyla*  
593 *raniceps* (Anura: Hylidae) durante a atividade reprodutiva. *Iheringia* **93**(2), 149-  
594 158.
- 595 Haddad C.F.B. & Cardoso A.J. (1992) Elección del macho por la hembra de *Hyla*  
596 *minuta* (Amphibia: Anura). *Acta Zoologica Lilloana* **41**, 81-91
- 597 Haddad, C.F.B & Pombal Jr, J.P. (1998) Redescription of *Physalaemus spiniger*  
598 (Anura: Leptodactylidae) and descriptions of two new reproductive modes.  
599 *Journal of Herpetology* **32**(4), 557-565.
- 600 Haddad, C.F.B. & Giaretta, A.A. (1999) Visual and Acoustic communication in the  
601 Brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura; Leptodactylidae). *Herpetologica*  
602 **55**(3), 324-333.
- 603 Haddad, C.F.B. & Sazima, I. (2004) A new species of *Physalaemus* (Amphibia;  
604 Leptodactylidae) from the Atlantic forest in southeastern Brazil. *Zootaxa* **479**, 1-  
605 12.
- 606 Hammer, Ø., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. (2001) PAST: Paleontological statistics  
607 software package for education and analysis. *Paleontologia Electronica* **4**(1), 9.
- 608 Hartmann, M.T., Hartmann, P.A. & Haddad, C.F.B. (2006) Repertório vocal de *Hylodes*  
609 *phyllodes* (Amphibia, Anura, Hylodidae). *Papéis Avulsos de Zoologia* **46**(17),  
610 203-209.
- 611 Heyer W.R. & Wolf J. (1989) *Physalemus crombiei* (Amphibia: Leptodactylidae) a new  
612 frog species from Espírito Santo, Brazil with comments on the *P. signiferus*  
613 group. Proceedings of the Biological Society of Washington. **102**, 500-506.
- 614 Heyer, W.R., Rand, A.S., Cruz, A.A.G. & Peixoto, O.L. (1990) Frogs of Boracéia.  
615 *Arquivos de Zoologia* **31**(4), 231-410.

- 616 Lingnau, R. & Bastos, R.P. (2007) Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes*  
617 *heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on  
618 advertisement call variation. *Journal of Natural History* **41**(17–20), 1227–1235.
- 619 Lingnau, R. & Bastos, R.P. (2003) Vocalizações de duas espécies de anuros do sul do  
620 Brasil (Amphibia hylidae). *Arquivos do Museu Nacional* **61**(3), 203-207.
- 621 Lingnau, R. & Bastos, R.P. (2007) Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes*  
622 *heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on  
623 advertisement call variation. *Journal of Natural History* **41**(17-20), 1227–1235.
- 624 Lingnau, R., Guimarães L.D. & Bastos R.P. (2004) Vocalizações de *Hyla wernerii*  
625 (Anura, Hylidae) no sul do Brasil. *Phyllomedusa* **3**(2), 115-120.
- 626 Lutz, B. (1960) Fighting and an incipient notion of territory in male tree frogs. *Copeia*  
627 **1960**, 61-63.
- 628 Márquez, R., & Bosch J. (2001). Communication and mating in the midwife toads  
629 (*Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*). In: *Anuran communication*. (Ed  
630 Ryan M.J.) Washington: Smithsonian Institution Press. p 220–231.
- 631 Martins, M., Pombal Jr, J.P. & Haddad, C.F.B. (1998) Escalated aggressive behavior  
632 and facultative parental care in the nest building gladiator frog *Hyla faber*.  
633 *Amphibia-Reptilia* **19**, 65-73.
- 634 Narins P.M., Feng A.S., Yong H.S., & Christensen-Dalsgaard J. (1998) Morphological,  
635 behavioral and genetic divergence of sympatric morphotypes of the treefrog  
636 *Polypedetes leucomystax* in Peninsular Malaysia. *Herpetologica* **54**,129–142.
- 637 Narins, P.M. & Capranica R.R. (1978) Communicative significance of the two-note call  
638 of the treefrog *Eleutherodactylus coqui*. *Journal of Comparative Physiology*  
639 **127**, 1–9.

- 640 Narins, P.M.; Lewis, E.R. & McClelland, B.E. (2000) Hyperextended call note  
641 repertoire of the endemic Madagascar treefrog *Boophis madagascariensis*  
642 (Rhacophoridae) *Journal of Zoology* **250**, 283-298.
- 643 Navas, C.A. & Bevier C.R. (2001) Thermal dependency of calling performance in the  
644 eurithermic frog *Colostetus subpunctatus*. *Herpetologica* **57**, 384-395.
- 645 Oldham, R.S. & Gerhardt, H.C. (1975) Behavioral isolating mechanisms of the  
646 treefrogs *Hyla cinerea* and *H. gratiosa*. *Copeia* **1975**, 223-231.
- 647 Oliveira Filho, J.C. & Giaretta, A.A. (2008) Reproductive behavior of *Leptodactylus*  
648 *mystacinus* (Anura, Leptodactylidae) with notes on courtship call of other  
649 *Leptodactylus* species *Iheringia* **98**(4), 508-515.
- 650 Opazo, D., Velásquez, N., Veloso, A., & Penna M. (2009) Frequency-Modulated  
651 Vocalizations of *Eupsophus queulensis* (Anura: Cycloramphidae) *Journal of*  
652 *Herpetology* **43**(4), 657-664.
- 653 Owen, P.C. & Tucker, J.K. (2006) Courtship Calls and Behavior in Two Species of  
654 Chorus Frogs, Genus *Pseudacris* (Anura: Hylidae) *Copeia* **1**, 137-144.
- 655 Pimenta, B.V.S., Cruz, C.A.G. & Silvano, D.L. (2005) A new species of the genus  
656 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain  
657 Forest of southern Bahia, Brazil. *Amphibia-Reptilia* **26**, 201-210.
- 658 Pombal Jr, J.P. & Madureira C.A. (1997) A new species of *Physalaemus* (Anura,  
659 Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest of Northeastern Brazil. *Alytes*  
660 **15**(3), 105-112.
- 661 Rand, A.S. & Ryan M. J. (1981) The adaptative significance of the complex vocal  
662 repertoire in a neotropical frog. *Zeitschrift fur Tierpsychologie* **57**, 209-214.
- 663 Ryan M. J. (2001) *Anuran communication*. Washington: Smithsonian Institution Press.

- 664 Ryan M. J. (1983) Sexual selection and communication in a neotropical frog  
665 *Physalaemus pustulosus*. *Evolution* **37**, 261-272.
- 666 Ryan, M. J. (1980). Female mate choice in a neotropical frog. *Science* **209**, 523-525.
- 667 Ryan, M.J., Tuttle, M.D., & Rand, A.S. (1982). Bat predation and sexual advertisement  
668 in a neotropical anuran. *American naturalist* **119**(19), 136-139.
- 669 Schwartz, J.J. & Wells, K.D. (1984). Interspecific acoustic interactions of the  
670 neotropical treefrog *Hyla ebraccata*. *Journal of Comparative Physiology*. **14**,  
671 211-224.
- 672 Schwartz, J.J. (1994) Male advertisement and female choice in frogs: recent findings  
673 and new approaches to the study of communication in a dynamic acoustic  
674 environment. *American Zoologist***34**, 616-624.
- 675 Tipler, P. (1991) *Física para Cientistas e Engenheiros*. Volume 2: Gravitação ondas e  
676 termodinâmica 3 Ed. LTC Livros Técnicos e Científicos Editora S.A.Rio de  
677 Janeiro 300 p.
- 678 Toledo, L.F. & Haddad, C.F.B. (2005) Acoustic repertoire and calling site of *Scinax*  
679 *fuscomarginatus* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* **39**(3), 455-464.
- 680 Toledo, L.F. & Haddad, C.F.B. (2009) Defensive vocalizations of Neotropical anurans.  
681 *South American Journal of Herpetology* **4**(1), 25-42.
- 682 Toledo, L.F., Guimarães, L.D., Lima, L.P., Bastos, R.P. & Haddad C.F.B. (2004) Notes  
683 on courtship, egg-laying site, and defensive behavior of *Epipedobates*  
684 *flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) from two mountain ranges of central and  
685 southeastern Brazil. *Phyllomedusa* **3**(2),145-147.
- 686 Tuttle, M.D. & Ryan, M.J. (1982). The role of synchronized calling ambient light, and  
687 ambient noise in anti-bat-predator behavior of a treefrog. *Behavioral Ecology*  
688 *and Sociobiology*. **11**, 125-131.

- 689 Vielliard, J.M.E. (2004) A diversidade de sinais e sistemas de comunicação na fauna  
690 brasileira. Anais do I seminário Música Ciência e tecnologia: Acústica musical.  
691 p.145.
- 692 Wagner Jr, W.E. (1989) Graded aggressive signals in Blanchard's cricket frog: vocal  
693 responses to opponent proximity and size. *Animal Behaviour* **38**, 1025-1038
- 694 Weber, L.N. Gonzaga, L.P. & Carvalho e Silva, S.P. (2005) A new species of  
695 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland Atlantic Forest of Rio de Janeiro  
696 state, Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) *Arquivos do Museu Nacional*,  
697 **63**(4), 677-684.
- 698 Wells, K.D. (1977) The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour* **25**,  
699 666–693.
- 700 Wells, K.D., Ed. (1988). *The effect of social interactions on anuran vocal behavior*. In  
701 B. Fritsch, M.J. Ryan, W. Wilczynski, T.E. Hetherington, and W. Walkowiak  
702 eds. *The Evolution of the Amphibians Auditory System*. John Wiley and Sons ,  
703 New York.
- 704 Wogel H., Abrunhosa, P.A. & Weber L.N. (2004) The tadpole, vocalizations and visual  
705 displays of *Hylodes nasus* (Anura, Leptodactylidae) *Amphibia-Reptilia* **25**, 291-  
706 227.
- 707 Wogel, H., Abrunhosa, P.A. & Pombal Jr, J.P. (2002) Atividade reprodutiva de  
708 *Physalaemus signifer* (Anura, Leptodactylidae) em ambiente temporário.  
709 *Iheringia* **92**(2), 57-70.
- 710 Zina, J. & Haddad, C.F.B. (2005) Reproductive activity and vocalizations of  
711 *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) in southeastern Brazil.  
712 *Biota Neotropica* **5**(2). Disponível em: [http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/](http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/pt/abstract?article+BN00605022005)  
713 [pt/abstract?article+BN00605022005](http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/pt/abstract?article+BN00605022005) Acessado em 17/10/2009.

714 Tabela 1 - Características físicas das notas A (anúncio), T (territorial), B (briga), S (soltura) e C (corte) de *Physalaemus spiniger*. Para as  
715 notas A e T também são apresentados os resultados de quando são emitidas isoladas ou em seqüência (A seguida de T) e os resultados de  
716 todos os casos independente da relação com outra nota em seqüência. Os dados são apresentados como Média  $\pm$  Desvio padrão ( mínimo –  
717 máximo) , número de notas avaliadas; número de indivíduos avaliados.

	Nota A			Nota T			Nota B	Nota S	Nota C
	isolada	seguida de T	média	isolada	seguido A	média			
duração (s)	0,24 $\pm$ 0,07 (0,57 - 0,14) 189; 35 indiv	0,27 $\pm$ 0,06 (0,39 - 0,15) 8; 35 indiv.	0,24 $\pm$ 0,07 (0,57 - 0,14) 221; 35 indiv.	0,09 $\pm$ 0,06 (0,21 - 0,04) 2; 10 indiv.	0,14 $\pm$ 0,05 (0,22 - 0,03) 34; 8 indiv.	0,13 $\pm$ 0,06 (0,22 - 0,03) 37; 8 indiv.	0,54 $\pm$ 0,13 (0,32 - 1,07) 34; 4 indiv.	0,43 $\pm$ 0,08 (0,32 - 0,64) 18; 4 indiv.	0,25 $\pm$ 0,06 (0,19 - 0,38) 13; 2 indiv.
pulsos/canto	365,1 $\pm$ 108,8 (752,1 - 214,9) 189; 35 indiv.	435,1 $\pm$ 97,3 (618,3 - 243,6) 8; 35 indiv.	375,2 $\pm$ 109,9 (752,1 - 214,9) 221; 35 indiv.	137,9 $\pm$ 100 (319,2 - 50,4) 2; 10 indiv.	240,8 $\pm$ 91,7 (376,3 - 46,1) 34; 8 indiv.	209,3 $\pm$ 104,8 (376,3 - 46,1) 37; 8 indiv.	102,1 $\pm$ 42,2 (46,1 - 291,0) 34; 4 indiv.	23,7 $\pm$ 4,8 (17 - 35) 18; 4 indiv.	80,2 $\pm$ 11,7 (66 - 106) 13; 2 indiv.
Fh1 (kHz)	0,43 $\pm$ 0,03 (0,3 - 0,5) 175; 35 indiv.	0,41 $\pm$ 0,04 (0,3 - 0,5) 8; 35 indiv.	0,43 $\pm$ 0,03 (0,3 - 0,5) 204; 35 indiv.	0,33 $\pm$ 0,04 (0,27 - 0,37) 2; 10 indiv.	0,34 $\pm$ 0,03 (0,29 - 0,45) 32; 8 indiv.	0,34 $\pm$ 0,03 (0,27 - 0,45) 37; 8 indiv.	0,39 $\pm$ 0,07 (0,24 - 0,52) 31; 4 indiv.	0,46 $\pm$ 0,05 (0,37 - 0,53) 18; 4 indiv.	0,27 $\pm$ 0,83 (0,14 - 0,38) 13; 2 indiv.
Fh3 (kHz)	1,27 $\pm$ 0,09 (0,62 - 1,46) 170; 35 indiv.	1,25 $\pm$ 0,06 (1,12 - 1,38) 8; 35 indiv.	1,27 $\pm$ 0,09 (0,62 - 1,46) 197; 35 indiv.	1 $\pm$ 0,12 (0,8 - 1,12) 2; 10 indiv.	1,03 $\pm$ 0,09 (0,86 - 1,35) 32; 8 indiv.	1,02 $\pm$ 0,1 (0,8 - 1,35) 37; 8 indiv.	1,42 $\pm$ 0,21 (1,12 - 1,72) 9; 4 indiv.	1,52 $\pm$ 0,05 (1,46 - 1,55) 3; 4 indiv.	
Fh4 (kHz)	1,68 $\pm$ 0,11 (1,23 - 1,98) 174; 35 indiv.	1,7 $\pm$ 0,1 (1,38 - 1,98) 8; 35 indiv.	1,68 $\pm$ 0,11 (1,23 - 1,98) 203; 35 indiv.	1,42 $\pm$ 0,09 (1,38 - 1,55) 2; 10 indiv.	1,39 $\pm$ 0,11 (1,29 - 1,72) 28; 8 indiv.	1,4 $\pm$ 0,11 (1,29 - 1,72) 32; 8 indiv.	1,72 $\pm$ 0,26 (1,29 - 2,07) 23; 4 indiv.	1,9 $\pm$ 0,19 (1,46 - 2,07) 13; 4 indiv.	
Fh5 (kHz)	1,99 $\pm$ 0,2 (1,64 - 2,41) 34; 22 indiv.	1,99 $\pm$ 0,14 (1,72 - 2,15) 8; 22 indiv.	1,99 $\pm$ 0,19 (1,64 - 2,41) 43; 22 indiv.	1,74 $\pm$ 0,23 (1,38 - 1,89) 2; 10 indiv.	1,74 $\pm$ 0,13 (1,38 - 2,07) 32; 8 indiv.	1,74 $\pm$ 0,14 (1,38 - 2,07) 37; 8 indiv.	1,95 $\pm$ 0,39 (1,21 - 2,5) 29; 4 indiv.	2,3 $\pm$ 0,27 (1,81 - 2,58) 16; 4 indiv.	
Fh6 (kHz)	1,81 $\pm$ 0 (1,81 - 1,81)		1,81 $\pm$ 0 (1,81 - 1,81)	1,83 $\pm$ 0,13 (1,64 - 1,89)	1,91 $\pm$ 0,11 (1,72 - 2,24)	1,9 $\pm$ 0,11 (1,64 - 2,24)	2,27 $\pm$ 0,43 (1,21 - 2,84)	2,65 $\pm$ 0,31 (2,07 - 3,1)	

	<b>1; 1 indiv.</b>	<b>1; 1 indiv.</b>	<b>2; 10 indiv.</b>	<b>27; 8 indiv.</b>	<b>31; 8 indiv.</b>	<b>20; 4 indiv.</b>	<b>13; 4 indiv.</b>
<b>Fh7 (kHz)</b>			<b>1,89 ± 0</b> <b>(1,89 - 1,89)</b>	<b>1,95 ± 0,05</b> <b>(1,89 - 1,98)</b>	<b>1,94 ± 0,05</b> <b>(1,89 - 1,98)</b>	<b>2,4 ± 0,17</b> <b>(2,07 - 2,5)</b>	<b>2,92 ± 0,32</b> <b>(2,58 - 3,27)</b>
<b>Fh8 (kHz)</b>			<b>1; 10 indiv.</b>	<b>3; 8 indiv.</b>	<b>4; 8 indiv.</b>	<b>6; 4 indiv.</b>	<b>5; 4 indiv.</b> <b>3,36 ± 0</b> <b>(3,36 - 3,36)</b> <b>1; 4 indiv.</b>

---

719 Tabela 2 – Comparação das notas de *Physalaemus spiniger*, com relação a duração, número de pulsos por nota e frequência fundamental. O  
 720 resultado do teste Tukey pareado é apresentado abaixo da diagonal e acima da diagonal está representado com setas a comparação do valor  
 721 da linha com relação a coluna.

	Duração					Número de pulsos/nota					Frequencia fundamental				
	A	T	B	S	C	A	T	B	S	C	A	T	B	S	C
A		NS	↑	↑	NS		↑	↑	↑	↑		↑	NS	NS	↑
T	NS		↑	↑	↓	6.51		↑	↑	↑	8		↓	↓	↑
B	8.54	5.6		NS	↓	15.06	8.54		NS	NS	NS	5.1		↓	↑
S	10.2	7.3	NS		↓	18.37	11.86	NS		NS	NS	11.7	6.64		↑
C	NS	5.67	11	13		16.28	9.76	NS	NS		15	7.35	12.4	19	

NS = resultado não significativo.

722 Tabela 3 – Correlação de Spearman entre as características da nota do canto de anúncio  
 723 de *Physalaemus spiniger* e temperatura, CRC e massa corpórea.

724

Características da nota de anúncio	Temperatura		CRC		Massa Corpórea	
	rs	P	rs	P	rs	P
Duração	-0.57	< 0,05	0.48	< 0,05	-0.44	< 0,05
F. Fundamental	-0,09	NS	-0,09	NS	-0,19	NS
F. dominante	0,359	< 0,05	-0.61	< 0,05	-0.46	< 0,05
F. dom. Fh1	-0.04	< 0,05	-0.62	< 0,05	-0.65	< 0,05
F. dom Fh2	-0.57	< 0,05	-0.56	< 0,05	-0.76	< 0,05

725 NS = valores não são significativos.

726

727    Legenda das Figuras

728    Figura 1 – Espectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) dos diferentes cantos  
729    registrados para *Physalaemus spiniger*: A) canto de anúncio, B) canto territorial, C)  
730    canto de briga, D) canto de soltura e E) canto de corte.

731

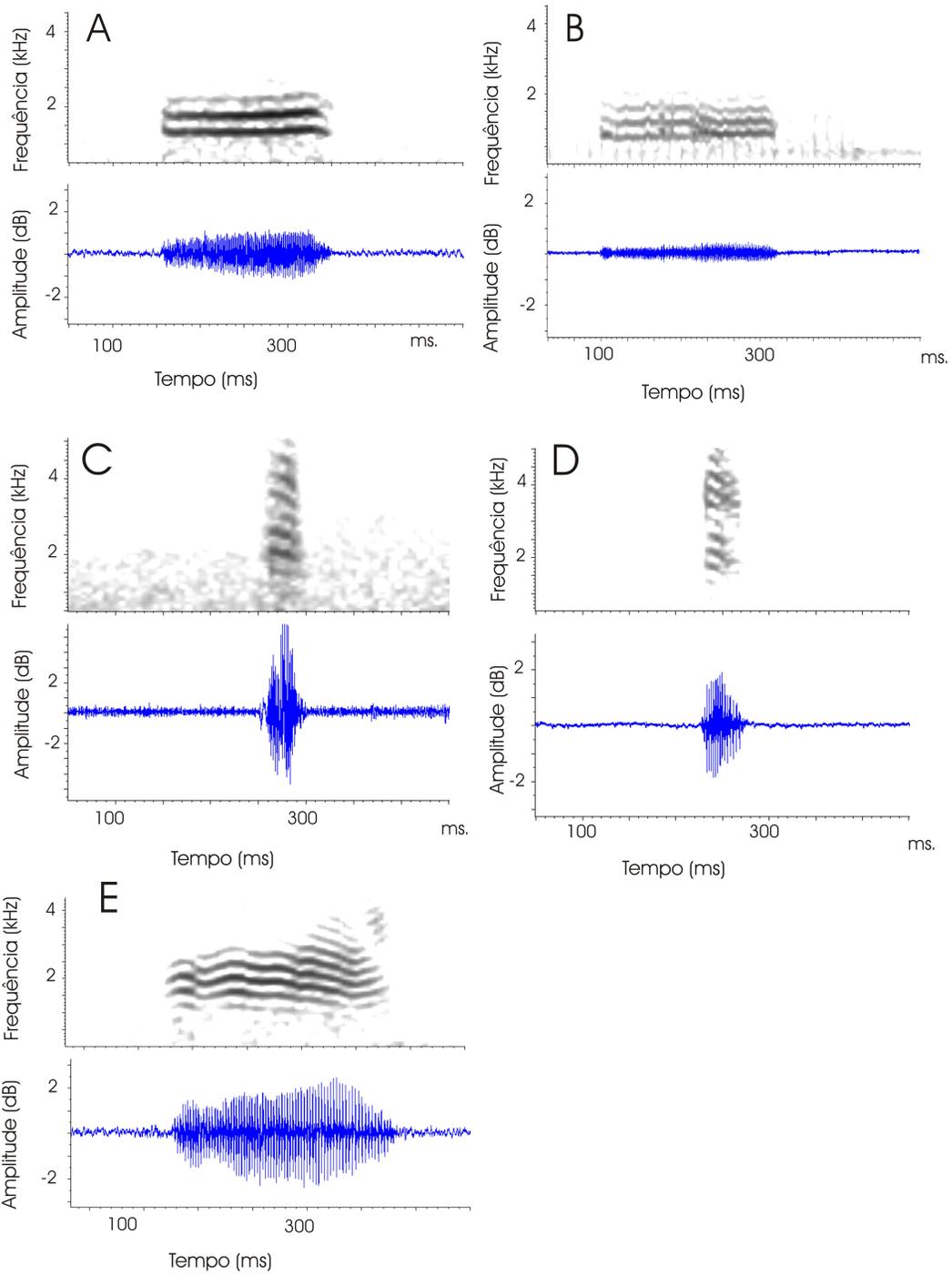
732    Figura 2 – Vinte e duas configurações (de A a V) registradas para o canto de anúncio de  
733    *Physalaemus spiniger*

734

735    Figura 3 – Diferentes configurações para as notas de anúncio (A) seguida da nota  
736    territorial (T), sem intervalo (AT) de *Physalaemus spiniger*. Em evidência a nota A e a  
737    nota T indicando aproximadamente a sua duração.

738

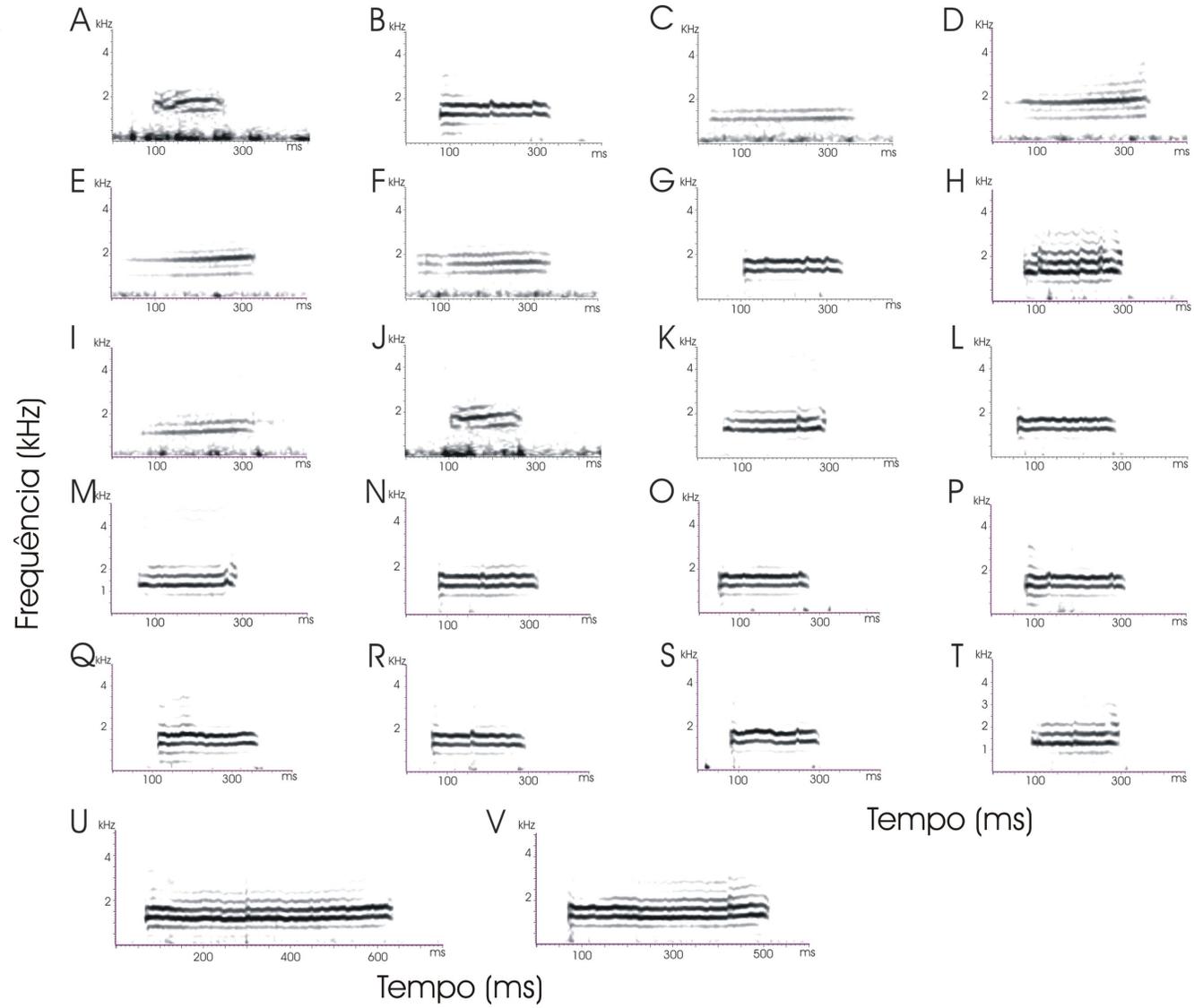
739 Figura 1 -

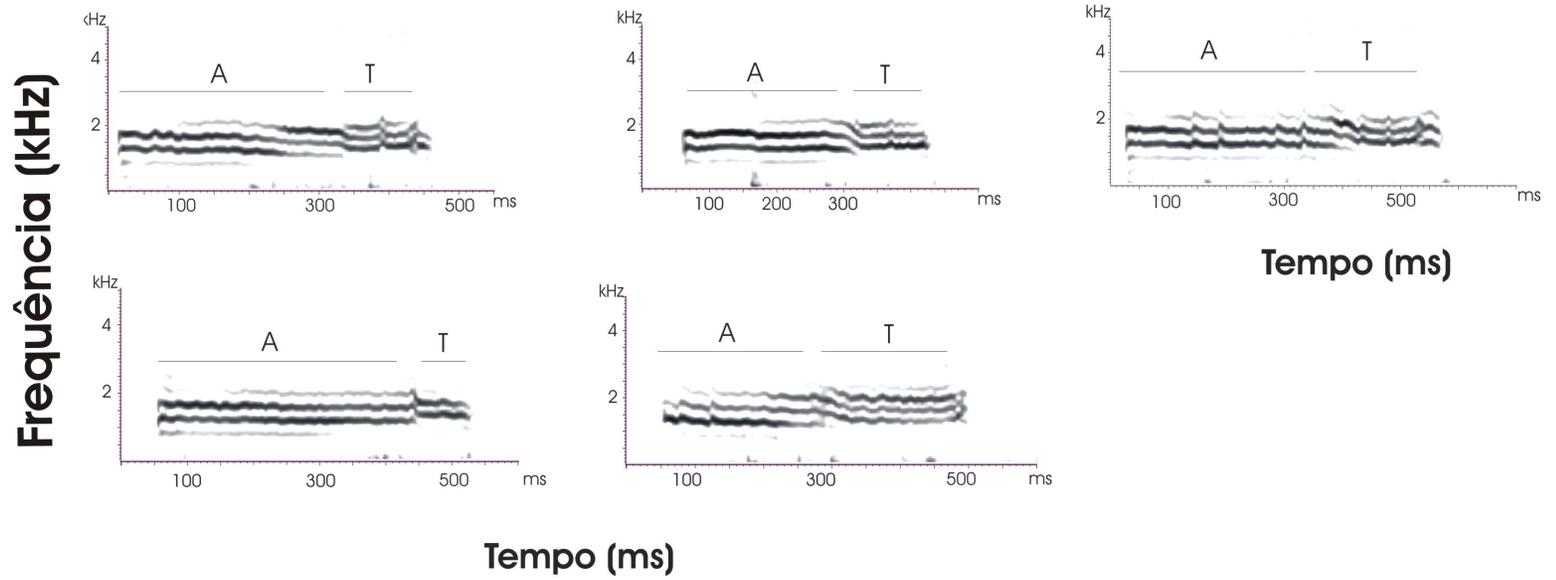


740

741 Figura 2

742





743 Figura 3

1 **Capítulo 2 - Variação morfológica de populações de *Physalaemus spiniger* (Anura,**  
2 **Leuiperidae)**

3 Thais R. N. Costa<sup>1,4</sup>, Maurício Oswaldo Moura<sup>1,2</sup> & Luís Felipe Toledo<sup>1,3</sup>

4

5

6 <sup>1</sup>Programa de pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do  
7 Paraná. Setor de Ciências Biológicas, Caixa Postal 19031, CEP 81531-980, Curitiba,  
8 Paraná, Brasil.

9

10 <sup>2</sup>Present address: Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas  
11 Departamento de Zoologia, Caixa Postal 19020 CEP 81531-980, Curitiba, Paraná,  
12 Brasil.

13

14 <sup>3</sup>Present address: Museu de Zoologia “Prof. Adão José Cardoso”, Universidade Estadual  
15 de Campinas (UNICAMP- IB), Rua Albert Einstein s/n, Campinas, São Paulo, Brasil,  
16 CEP: 13083-863.

17

18 <sup>4</sup>CORRESPONDENCE: e-mail, [thaisreginacosta@gmail.com](mailto:thaisreginacosta@gmail.com)

19

20 Revista adotada para formatação: Herpetologica

21

## 22 Abstract

23 Geographic variation in species morphology can be measured from a large number of  
24 characters (using size and shape in anatomical structures) in multimentional analysis  
25 (PCA). This kind of analysis may provide information about which environmental  
26 factors are influing the morphologic variation. In this way, we analised individuals of  
27 *Physalaemus spiniger* deposited in four scientific collections that include the largest  
28 collection of this species. Eleven morphological measures were taken in seven  
29 populations and we used 20 environmental characterists in each location to check their  
30 influence on the populations. In PCA three first axes explained more than 83 % of  
31 variance. PC 1 explained the shape and the PC2 explained the size. The canonical  
32 variate analysis indicated a non-coincidence of centroids whith the formation of four  
33 groups. The first eingevector explained 40 % and the second explained 28 %. The three  
34 first components explained about 97 % of the total variation of environmental variables.  
35 Despite the linear correlation test was significant between variables and climatic factors,  
36 the partial mantel test does not indicate the cause of the difference between the  
37 populations are due to climatic factors or geographic distance. The difference between  
38 the populations occurs as the latitudinal gradient in the north where the populations tend  
39 to have a head longer than wide, eyes and nose larger, which can be interpreted as  
40 having a larger body size. *Physalaemus spiniger* fits in Bergmann's rule when  
41 considering the isothermal, which indicates how the temperature varies during the day,  
42 that is, the extremes of temperature. In the North, although the average temperature is  
43 more constant, the variation of daily temperature is higher. This, together with the  
44 absence of the latitudinal gradient of mean temperature between the regions tested, may  
45 result the species to attain larger sizes until they start breeding activity, because the

46 areas they occupy have lower rates of precipitation during periods of extreme  
47 environmental characteristics (cold and dry).

48 Keywords: Multidimensional Analysis; Morphometry; *Physalaemus spiniger*;  
49 Geographic variation.

50 Resumo

51 A variação geográfica da morfologia de espécies pode ser mensurada a partir de um  
52 grande número de caracteres (tratando, por exemplo, a forma e o tamanho de diversas  
53 estruturas anatômicas). Através de análises multidimensionais (como PCA) pode-se  
54 obter informações sobre quais fatores ambientais estão influenciando a variação  
55 morfológica das espécies. Sendo assim, analisamos exemplares de *Physalaemus*  
56 *spiniger* depositados em coleções científicas. Foram medidas 11 variáveis morfológicas  
57 de sete populações e utilizamos 20 variáveis abióticas de cada localidade para verificar  
58 a influência dessas características nas populações. Os três primeiros eixos da PCA  
59 explicam mais de 83 % da variação, com o CP1 explicando a forma e o CP2 explicando  
60 o tamanho. A análise de variáveis canônicas mostra uma não coincidência dos  
61 centróides, com a formação de quatro grupos. O primeiro autovetor explica cerca de 40  
62 % da diferença entre os centróides e o segundo cerca de 28 %. Os três primeiros  
63 componentes explicam cerca de 97 % da variação total das variáveis abióticas. Apesar  
64 do teste de correlação linear apresentar-se significativo entre algumas variáveis e os  
65 fatores climáticos, o teste parcial de mantel não aponta que a causa da diferença entre as  
66 populações seja os fatores climáticos nem a distância geográfica. A diferença entre as  
67 populações ocorre conforme o gradiente latitudinal onde ao norte as populações tendem  
68 a ter uma cabeça mais longa do que larga, olho e focinho maiores, o que pode ser  
69 interpretado como possuindo um tamanho de corpo maior. *Physalaemus spiniger* se

70 encaixa na regra de Bergmann quando se considera a isothermalidade, que indica o  
71 quanto a temperatura varia durante o dia, isto é, os extremos de temperatura. Mais ao  
72 norte, apesar da temperatura média ser mais constante, a variação da temperatura diária  
73 é maior. Esta situação, aliada a ausência do gradiente latitudinal da temperatura média  
74 entre as regiões testadas, pode estar forçando a espécie a atingir tamanhos maiores até  
75 que se inicie a atividade reprodutiva, uma vez que as áreas que elas ocupam têm índices  
76 menores de precipitação em períodos de características ambientais extremas (frio e  
77 seco).

78 *Palavras-chave:* Análise Multidimensional; Morfometria; *Physalaemus spiniger*;  
79 Variação Geográfica.

80

## 81    Introdução

82           A VARIAÇÃO geográfica de caracteres entre populações é a observação do padrão  
83 de variação e covariação de descritores morfológicos que pode tanto ser produto de  
84 mecanismos ecológicos quanto evolutivos. Desta forma, o estudo de variações  
85 geográficas pode fornecer informações importantes a respeito dos padrões de adaptação  
86 aos diferentes habitats, a uma separação histórica, ou isolamento ecológico (Benitez-  
87 Diaz, 1993). Assim, a compreensão completa destes padrões é uma primeira etapa para  
88 a compreensão de processos evolutivos em populações naturais (Benitez-Diaz, 1993).

89           A variação geográfica pode ser mensurada a partir de padrões morfológicos,  
90 tanto de forma unidimensional quando multidimensional. A forma unidimensional trata  
91 da variação de características onde se tem relações diretas entre as variáveis (Peres-  
92 Neto, 1995). Já, a multidimensional trata da relação alométrica entre as variáveis e  
93 introduz a consideração da forma nas análises das variáveis (ver referências em Reis,  
94 1988). A perspectiva multidimensional pode ser tratada pela morfometria tradicional,  
95 com relações ortogonais entre as variáveis e pela morfometria geométrica, que utiliza de  
96 marcos anatômicos ou contornos onde é possível, por exemplo, quantificar razões entre  
97 distâncias ou ângulos de estruturas (Rohlf & Marcus, 1993). Embora os dados originais  
98 sejam diferentes nas duas formas de abordagem, o tratamento estatístico é semelhante.  
99 Neste procura-se determinar as relações entre e dentro das variáveis (estrutura latente)  
100 através de técnicas de redução do espaço dimensional (e.g. análise dos componentes  
101 principais) e de teste de hipóteses a priori, como nas análises das variáveis canônicas e  
102 técnicas discriminantes em geral (Morrison, 1976).

103           Análises de variabilidade morfológica ao longo da distribuição geográfica de  
104 algumas espécies de anuros têm apontado para o tamanho como um descritor  
105 importante, como nos casos de *Eupemphix nattereri* Steindachner, 1863 (Silva et al.,

106 2008), *Hyla intermedia* Boulenger, 1882 (Rosso et al., 2004), *Hypsiboas bischoffi*  
107 (Boulenger, 1887) (Marcelino et al., 2009), *Rhinella spinulosa* (Wiegmann, 1834)  
108 (Méndez et al., 2004), o grupo de espécies de *Rhinella crucifer* (Wied-Neuwied, 1821)  
109 (Baldissera et al., 2004) e do complexo de *Pseudepidalea viridis* (Laurenti, 1968)  
110 (Castellano & Giacoma, 2000). Em alguns casos, a variação morfológica ao longo da  
111 distribuição tem implicações taxonômicas (Baldissera et al., 2004; Napoli &  
112 Caramaschi 1999 a,b) e em outros casos não (Castellano & Giacoma, 2000; Marcelino  
113 et al., 2009; Méndez et al., 2004; Rosso et al., 2004; Silva et al., 2008).

114 Tendo como base a variação morfológica das espécies, alguns esforços têm sido  
115 feitos no sentido de identificar e resolver problemas taxonômicos (e.g., Napoli &  
116 Caramaschi, 1999a,b). Verifica-se a partir de variações morfológicas aliadas a outras  
117 ferramentas, como análise genética e bioacústica, se toda a variação interespecífica  
118 representa a variação dentro de uma mesma espécie ou se tratam-se de duas ou mais  
119 espécies distintas, consideradas anteriormente como uma só entidade taxonômica. Casos  
120 como este não são incomuns e podem ser observados para *Dendropsophus anataliasiasi*  
121 (Bokermann, 1972) e *D. rubicundulus* (Reinhardt & Lütken, 1862), com a descrição de  
122 *D. cachimbo* Napoli & Caramaschi, 1999 (Napoli & Caramaschi, 1999a), e pela  
123 avaliação do complexo *D. tritaeniatus*, com a descrição de *D. jimi* Napoli &  
124 Caramaschi, 1999 e *D. rhea* Napoli & Caramaschi, 1999 (Napoli & Caramaschi,  
125 1999b).

126 Estudos recentes têm considerado a variação genética em conjunto com a  
127 variação morfológica de forma a somar ferramentas e permitir um maior entendimento  
128 dos fatores que causam a variação (Méndez et al., 2004; Rosso et al., 2004; Silva et al.,  
129 2008).

130           Variações morfológicas associadas a gradientes latitudinais foram encontradas  
131 para diversas espécies de anuros (e.g., Alexandrino et al., 2005; Baldissera et al., 2004;  
132 Benitez-Díaz, 1993; Castellano & Giacoma 2000; Funk et al., 2008; Marcelino et al.,  
133 2009; Méndez et al., 2004; Puerto et al., 2001; Rosso et al., 2004; Silva et al., 2008,  
134 Wüster et al., 1992). Em *Chioglossa lusitanica* Bocage, 1864, a variação morfológica  
135 coincide com a variação de marcadores genéticos ao longo do gradiente latitudinal  
136 analisado (Alexandrino et al., 2005). Em *Eupemphix nattereri* a variação morfológica  
137 das populações parece estar associada à variação genética e não às variações ambientais  
138 (Silva et al., 2008). Já *Rhinella spinulosa* apresenta populações de tamanho de corpo  
139 menor ao norte (Méndez et al., 2004). Espécies do complexo de *Pseudepidalea viridis*  
140 apresentam diferenças em relação ao tamanho, com espécies maiores ocupando áreas  
141 mais áridas e a forma do corpo parece estar associada a distâncias geográficas entre as  
142 populações (Castellano & Giacoma, 2000). *Hypsiboas bischoffi*, apesar de apresentar  
143 dois grupos distintos com relação a presença ou ausência de faixas dorso-longitudinais,  
144 não apresentou variação clinal geográfica (Marcelino et al., 2009). Para algumas  
145 espécies do grupo *Rhinella crucifer* há uma diminuição do tamanho do corpo no sentido  
146 norte-sul (Baldissera et al., 2004). *Hyla intermedia* apresenta variação populacional  
147 relacionada à distância genética e a geográfica (Rosso et al., 2004).

148           O grupo de *Physalaemus signifer* é composto por 13 espécies que se distribuem  
149 desdeo estado de Alagoas até o estado de Santa Catarina. Quatro destas espécies (*P.*  
150 *angrensis* Weber, Gonzaga, & Carvalho e Silva, 2006; *P. atlanticus* Haddad & Sazima,  
151 2004; *P. camacan* Pimenta, Cruz, & Silvano, 2005 e *P. irroratus* Cruz, Nascimento &  
152 Feio, 2007) têm sua distribuição conhecida somente para suas localidades tipo (Frost,  
153 2009). Provavelmente algumas dessas espécies também ocorrem em outras áreas  
154 (L.F.T., obs. pessoal).

155 *Physalaemus spiniger* (Miranda-Ribeiro, 1926) faz parte do grupo *P. signifer*. É  
156 uma espécie de anfíbio endêmica da Mata Atlântica e que se distribui na sua porção sul  
157 e sudeste. Ocorre do litoral norte do estado do Paraná (Guaraqueçaba) até o litoral sul  
158 do estado de São Paulo (Estação Ecológica da Juréia) (Haddad & Pombal, 1998).

159 Como as características ambientais (pluviosidade e temperatura) variam de  
160 acordo com a latitude, e como as características ambientais são fatores importantes e  
161 limitantes para a vida, sobrevivência, desenvolvimento e reprodução dos anfíbios em  
162 uma determinada área, acreditamos que a variação das características ambientais, dentro  
163 da área de ocorrência de *Physalaemus spiniger*, possa influenciar a morfologia da  
164 espécie nas diferentes áreas de ocorrência. Desta forma, o objetivo deste estudo é testar  
165 se existe estruturação geográfica de *Physalaemus spiniger* ao longo da sua distribuição,  
166 usando marcadores morfológicos que descrevem a variação e covariação no tamanho e  
167 na forma.

## 168 Material e Métodos

### 169 Amostra

170 Foram analisados exemplares de *Physalaemus spiniger* depositados nas coleções  
171 do Museu de História Natural Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná (MHNCI), Coleção de  
172 anfíbios Célio F. B. Haddad, Rio Claro, São Paulo (CFBH), Museu de Zoologia “Prof.  
173 Adão José Cardoso”, Campinas, São Paulo (ZUEC) e Museu de Zoologia da  
174 Universidade de São Paulo, São Paulo (MZUSP). Foi também consultada a coleção do  
175 Museu Nacional (MNRJ), mas nesta apenas poucos indivíduos estão presentes e  
176 portanto o material testemunho não foi utilizado.

177 As populações de *P. spiniger* foram determinadas com base nos municípios de  
178 procedência. Para os indivíduos destas populações 11 medidas morfológicas foram

179 mensuradas: comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento da cabeça (CC), largura  
180 da cabeça (LC), comprimento do pé (CP; do calo metatarsal interno até a ponta do  
181 artelho mais longo), comprimento da tíbia (CT), comprimento do fêmur (CF), distância  
182 inter-ocular (DIO), diâmetro do olho (DO), distância olho-focinho (DOF), distância  
183 olho-narina (DON) e distância narina-focinho (DNF = DOF – DON) (Figura 1). Todas  
184 as medidas foram realizadas com paquímetro digital Digimess (precisão 0,01 mm).

185 Foram consideradas 20 variáveis abióticas obtidas no banco de dados climáticos  
186 WorldClim, em resolução espacial 30-arc-sec (Hijmans et al., 2005) a saber: 1 -  
187 temperatura média anual, 2 - variação da temperatura mensal, 3 - Isotermalidade  
188  $((2/7)*100)$ , 4 - sazonalidade da temperatura, 5 - temperatura máxima no mês mais  
189 quente, 6 - temperatura mínima no mês mais frio, 7 - variação da temperatura anual, 8 -  
190 temperatura média do trimestre mais quente, 9 - temperatura média do trimestre mais  
191 frio, 10 - temperatura média do trimestre mais seco, 11 - temperatura média do trimestre  
192 mais úmido, 12 - precipitação anual, 13 - precipitação média no mês mais úmido, 14 -  
193 precipitação média no mês mais seco, 15 – sazonalidade da precipitação, 16 -  
194 precipitação média sazonal, 17 - precipitação média no trimestres mais úmido, 18 -  
195 precipitação média no trimestre mais seco, 19 - precipitação média no trimestres mais  
196 quente, 20 - precipitação média no trimestre mais frio. Um conjunto desses dados foi  
197 compilado para cada uma das localidades analisadas de *P. spiniger*.

198 Populações selecionadas

199 Foram utilizados apenas machos adultos e localidades com no mínimo nove  
200 indivíduos. As populações consideradas foram a Estação Ecológica da Juréia (EEJ);  
201 Parque Estadual Campina do Encantado (PECE), Jacupiranga (JAC), Ilha Comprida  
202 (ICP), Ilha de Cananéia (ICN), Parque Estadual Ilha do Cardoso (PEIC) e Reserva

203 Natural Salto Morato (RNSM). A última está localizada no estado do Paraná, as demais  
204 no estado de São Paulo (Tabela 1, Figura 2).

205 Análise estatística

206 Para reduzir a dimensão da matriz de dados e detectar possíveis variações  
207 morfológicas entre as populações foi usada uma análise de componentes principais  
208 (PCA), construída sobre uma matriz de variância e covariância das medidas  
209 morfológicas logaritmizadas. Para determinar a existência de variação espacial entre as  
210 populações foi usada uma análise de variáveis canônicas (CVA) também com a matriz  
211 de dados logaritmizada (Manly, 1994).

212 Para determinar se as diferenças entre as populações são produto das condições  
213 locais, foi realizada uma análise de componentes principais com os fatores abióticos e  
214 extraído dela o primeiro componente principal, que explica a maior parte da variação  
215 entre as localidades. Este componente principal foi considerado como uma variável que  
216 engloba as informações globais sobre o clima. Esta variável foi unida à matriz de dados  
217 morfométricos, sob o nome de “clima”. A partir desta nova matriz de dados (dados  
218 morfométricos + “clima”) foi realizado um teste de correlação linear, para verificar  
219 quais variáveis morfométricas estão correlacionadas com as variáveis abióticas.

220 O teste de Mantel parcial (Manly, 1994; Legendre & Legendre, 1998) foi usado  
221 para testar concomitantemente os efeitos das similaridades físicas nas medidas  
222 morfológicas. Foram usados dois tipos de matrizes de similaridades físicas: a distância  
223 geográfica, que corresponde à distância linear (em km) entre as localidades das  
224 populações analisadas, e a distância climática, que corresponde a similaridade  
225 euclideana dos fatores climáticos entre as localidades.

226 As variáveis morfológicas foram testadas individualmente quanto a sua  
227 correlação (Zar, 1999) em relação à latitude. Anteriormente, foi verificada a  
228 normalidade dos dados pelo teste de normalidade (Zar, 1999).

229 Todas as análises foram realizadas no software PAST (Hammer et al., 2001),  
230 exceto o teste de Mantel parcial que foi realizado com o software ZT (Bonnet & Peer,  
231 2002).

232 Para verificar a acurácia das medições, foi escolhida uma amostra de 15  
233 indivíduos da população da Reserva Natural do Salto Morato (RNSM) que teve suas  
234 medidas registradas em três dias não consecutivos e em ordem aleatória. Na matriz de  
235 dados cada dia de medição foi considerado uma réplica e, a partir da matriz de dados  
236 logaritmizada, foi realizada uma análise de variância (MANOVA) para testar a hipótese  
237 nula de que as variações de medição seriam ao acaso (Hayek & Heyer 2001).

## 238 Resultados

### 239 Verificação da acurácia da medição

240 A imprecisão da medição (dada pela porcentagem da variação dos valores de cada  
241 uma das variáveis em relação à média) foi maior que 50 % para DIO, DON, DOF, DO e  
242 DNF. No entanto, a análise de variância múltipla (MANOVA) não aponta diferença  
243 entre as amostras (Wilk's lambda = - 0,55;  $g1 = 22$ ;  $70$ ;  $F = 1,121$ ;  $P > 0,05$ ), indicando  
244 que a distribuição dos erros de medição são aleatórias.

### 245 Análise das variáveis morfológicas

246 Com base no levantamento feito nas coleções reunimos dados de sete localidades  
247 de Floresta Ombrófila Densa, uma no estado do Paraná e as demais no estado de São  
248 Paulo (Tabela 1, Figura 2), com um total de 167 machos adultos (Tabela 2).

249 As medidas morfológicas com o maior coeficiente de variação foram:  
250 comprimento do fêmur (98,8 % na população de ICN e 97 % na população de ICP),  
251 comprimento da tíbia (98% nas populações de PEIC e EEJ), e comprimento rostro-  
252 cloacal (98 %, 113 % e 114 % nas populações de PECE, RNSM e JAC  
253 respectivamente) (Tabela 2).

254 A partir da análise de componentes principais nove eixos foram obtidos, sendo  
255 que os três primeiros componentes explicam juntos 83,88 % (CP1 = 64,6 %, CP2 =  
256 12,11 %; CP3 = 6,67 %) da variação (Tabela 3, Figura 2).

257 O primeiro componente (CP1) é um contraste entre as variáveis: distância  
258 narina-focinho (-0,97), distância olho-focinho (-0,19) e distância olho-narina (0,16). Já  
259 o segundo componente (CP2) é explicado pelas variáveis distância olho-narina (0,74),  
260 distância olho-focinho (0,49) e distância interocular (0,35); e o terceiro componente  
261 (CP3) pelo contraste entre as variáveis: diâmetro do olho (-0,83), comprimento da  
262 cabeça (-0,28) e distância interocular (0,25) (Tabela 3).

263 A maior variação da amostra testada está na forma, pois os dois primeiros  
264 componentes explicam a variação da forma (embora o tamanho seja uma variável  
265 importante) e o segundo componente explica a variação de tamanho.

266 Neste contexto, a análise dos escores no espaço reduzido dos dois primeiros  
267 componentes (Figura 3a) indica uma separação entre alguns grupos. Existe uma  
268 tendência da população de JAC se posicionar mais a esquerda do CP1 e a população da  
269 RNSM e ICP mais a direita deste. A relação das características com o CP1 indica que a  
270 primeira população apresenta um focinho maior (maior DNF) pelo posicionamento da  
271 narina mais posteriormente que as demais populações (menor DON e maior DOF). Isto  
272 é, apresenta um focinho mais longo que as demais. O inverso acontece com as  
273 populações da RNSM e de ICP, que apresentam um focinho menor (menor DNF), com

274 a narina posicionada mais anteriormente, uma distância olho-narina maior e a distância  
275 olho-focinho menor.

276 As populações do PECE e ICN posicionaram-se mais próximas a porção positiva  
277 do CP2, o que indica que estas populações possuem uma maior distância olho-narina,  
278 distância olho-focinho e distância interocular e da população da EEJ de se posicionar na  
279 porção negativa deste componente, com menor distância olho-narina, distância olho  
280 focinho e distância interocular. Isto pode ser interpretado pela presença de uma cabeça  
281 mais estreita na população da EEJ. A diferença entre as populações também pode ser  
282 dada por outros fatores como os relacionados no CP3 (Figura 3b), que posiciona as  
283 populações de ICP e da RNSM na sua porção positiva e do PEIC e JAC na sua porção  
284 negativa, indicando que as primeiras apresentam olhos menores (menor DO), a cabeça  
285 mais curta (resultado de menor CC) e maior distância interocular (DIO). Estas duas  
286 últimas distâncias são perpendiculares (CC e DIO) entre si e podem ser interpretadas  
287 como sendo uma indicação de se tratarem de animais com cabeças mais largas que  
288 longas em animais menores (o CRC é o quarto em nível de importância para a  
289 composição do componente) (Tabela 3).

290 A diferença entre as populações foi determinada pela análise de variáveis  
291 canônicas (CVA) que mostra uma não coincidência dos centróides (Figura 4), com a  
292 formação de quatro complexos: um deles formado pela população de ICP, ICN e PECE;  
293 outro formado pelas populações de EEJ e PEIC; outro formado pela população de JAC e  
294 o quarto pela população de RNSM (Wilk's lambda = - 0,18;  $F_{60/808,1} = 4,549$ ;  $P < 0,05$ ).  
295 O primeiro autovalor explica 39,58 % e o segundo 28,42 % da diferença entre as  
296 populações, sendo que as quatro características que mais contribuem para a primeira  
297 variável canônica 1 (CV1) são, em ordem decrescente: diâmetro do olho (DO) (- 0,56),  
298 distância olho narina (DON) (0,55), comprimento da cabeça (CC) (0,45) e a distância

299 interocular (DIO) (0,32), e para a segunda variável canônica (CV2) largura da cabeça  
300 (LC) (0,587), comprimento do pé (CP) (0,44), o comprimento do fêmur (CF) (0,39) e o  
301 comprimento rostro-cloacal (CRC) (0,23) (Tabela 4, Figura 4).

### 302 Análise dos fatores climáticos

303 Pela análise dos componentes principais sete eixos foram obtidos na redução de  
304 espaço para as variáveis abióticas, sendo que os três primeiros componentes explicam  
305 96,69 % (Tabela 5) da variação total. O primeiro componente PC1 é formado pelo  
306 contraste entre a precipitação e a temperatura mensal, com as variáveis: variação da  
307 temperatura mensal (0,295) e a precipitação do mês mais seco (- 0,288), e a precipitação  
308 do período mais seco (- 0,285) e do período mais frio (- 0,285). O segundo componente  
309 (CP2) é a resposta da temperatura, formado pela temperatura mínima do mês mais frio  
310 (- 0,333), a temperatura média do período mais úmido (- 0,314), a temperatura máxima  
311 no mês mais quente (- 0,301), e a temperatura média anual (- 0,2985). O o terceiro  
312 componente (CP3) entre a sazonalidade da temperatura (-0,525), a variação da  
313 temperatura anual (- 0, 439) e a sazonalidade da precipitação (-0,4051) (Tabela 5,  
314 Figura 5). A análise do primeiro componente (CP1) evidencia dois grupos: as  
315 localidades que sofrem uma menor variação da temperatura durante o dia e o ano e que  
316 possuem um regime de chuvas mais intenso (PEIC e RNSM), e as localidades onde a  
317 variação da temperatura durante o ano e o dia não é intensa e o índice de pluviosidade é  
318 menor (EEJ, PECE e JAC). O segundo eixo permite identificar as localidades onde as  
319 temperaturas são menores (EEJ, PECE e PEIC) e onde são maiores (ICP e ICN). Já o  
320 terceiro eixo (CP3) distingue a população EEJ das demais pela regularidade da  
321 temperatura anual e chuvas mais homoganeamente distribuídas.

322 Em teste de correlação linear as variáveis morfológicas que se mostram  
323 relacionadas com os fatores climáticos são: LC ( $r_s = - 0,18$   $P < 0,05$ ), CC ( $r = 0,26$ ,  $P <$

324 0,01), DIO ( $r_s = 0,23$ ,  $P < 0,05$ ), DOF ( $r_s = - 0,21$ ,  $P < 0,01$ ), e DNF ( $r_s = 0,18$ ,  $P <$   
325  $0,01$ ) (Tabela 6). E as que mostram relação com o gradiente latitudinal sul - norte, são:  
326 CC ( $r_s = 0,287$ ,  $P < 0,001$ ), DO ( $r_s = 0,23$ ,  $P < 0,01$ ), DNF ( $r_s = 0,185$ ,  $P < 0,05$ ), LC  
327 ( $r_s = - 0,18$ ,  $P < 0,05$ ) e DON ( $r_s = 0,21$ ,  $P < 0,01$ ) (Tabela 6). As variáveis  
328 morfológicas não citadas se mostram independentes dos fatores analisados.

329       Em teste de correlação linear, as variáveis climáticas que apresentam correlação  
330 com a latitude foram: isothermalidade ( $r_s = 0,93$ ;  $P < 0,05$ ), sazonalidade da temperatura  
331 ( $r_s = - 0,89$ ;  $P < 0,05$ ), precipitação no período mais seco ( $r_s = - 0,78$ ;  $P < 0,05$ ) e  
332 precipitação no período mais frio ( $r_s = -0,78$ ;  $P < 0,05$ ).

333       O resultado do teste Mantel parcial aponta uma correlação entre a matriz  
334 climática e a geográfica ( $r = - 0,65$ ;  $P < 0,05$ ) e não indica que os fatores climáticos ( $r =$   
335  $- 0,106$ ;  $P > 0,05$ ) e/ou a distância geográfica ( $r = - 0,17$ ;  $P > 0,05$ ) causam as variações  
336 morfológicas (Figura 6).

### 337 Discussão

338       A imprecisão da medição foi maior nas variáveis de menores valores DIO,  
339 DON, DOF, DO e DNF, possivelmente associado a dificuldade de obtenção destas  
340 medidas (Hayek & Heyer, 2005). Porém, a análise de variância multivariada  
341 (MANOVA) realizada entre as três medições da mesma amostra em dias alternados  
342 (segundo Hayek & Heyer, 2001) não resultou em diferença, indicando que as diferenças  
343 morfológicas encontradas entre as populações não são resultado de medições  
344 tendenciosas.

345       As medidas morfológicas com o maior coeficiente de variação estão  
346 relacionadas com o tamanho dos indivíduos (CF, CT e CRC), porém, as medidas que

347 mais contribuem para a diferença morfológica entre as populações estão relacionadas  
348 com a forma dos indivíduos (DNF, DON, DOF, DIO, DO e CC).

349 O tamanho do corpo e o comprimento da cabeça já foram reconhecidos para  
350 outras espécies como sendo características importantes na diferenciação morfológica  
351 entre populações (Castellano & Giacoma, 2000; Méndez et al., 2004; Rosso et al., 2004;  
352 Silva et al., 2008). Porém, em alguns casos o tamanho do corpo pode não ser uma  
353 variável discriminatória importante (Puerto et al., 2001), como no caso destas  
354 populações de *Physalaemus spiniger*.

355 Apesar das variáveis: comprimento da cabeça, diâmetro do olho e distância-olho  
356 focinho se apresentarem individualmente correlacionadas com os fatores climáticos, o  
357 teste de Mantel parcial aponta que a causa da variação morfológica das populações não  
358 está relacionada aos fatores climáticos nem a distância geográfica. A mesma condição  
359 foi observada entre a variação morfológica e geográfica de *Eupemphix nattereri* no  
360 cerrado brasileiro (Silva et al., 2008) e para *H. bischoffi* ao longo da Mata Atlântica  
361 (Marcelino et al., 2009). Da mesma forma que nos nossos estudos, *Eupemphix nattereri*  
362 apresentou correlação entre as matrizes geográficas e macroambientais (nas quais foram  
363 considerados índices pluviométricos, temperatura média e umidade do ar), mas também  
364 não apresentou correlação entre a variação morfométrica e a variação genética (Silva et  
365 al., 2008).

366 A diferença entre as populações aqui estudadas indica que as características  
367 morfológicas variam conforme o gradiente latitudinal, sendo que ao norte as populações  
368 tendem a ter uma cabeça mais longa do que larga, olho maior (maior DO) e um focinho  
369 maior (maior DNF), o que pode ser interpretado como possuindo um corpo mais  
370 robusto, apesar de não significativo. Variação morfológica em relação a um gradiente  
371 norte-sul foi encontrada para outras espécies de anfíbios como em *Rhinella spinulosa* no

372 Chile (Méndez et al., 2004), onde quanto mais ao norte, menor é o tamanho do corpo  
373 das populações. Ou como em *Hypsiboas bischoffi* (Marcelino et al., 2009) e cinco  
374 espécies do grupo *Rhinella crucifer* (Baldissera et al., 2004), para as quais no sentido  
375 norte-sul há uma diminuição do tamanho do corpo. Nossos dados corroboram com o  
376 padrão descrito para as espécies da Mata Atlântica (*H. bischoffi* e as espécies do grupo  
377 de *R. crucifer*).

378         Em anfíbios o tamanho do corpo do adulto depende de vários fatores como o  
379 tempo de metamorfose, crescimento antes e depois da maturidade, idade de maturidade  
380 e longevidade, (Rosso et al., 2004). No entanto, diferenças genéticas e ambientais  
381 podem causar diferenças no desenvolvimento ontogenético o que resulta na variação do  
382 tamanho corporal (Silva et al., 2008).

383         A tendência dos organismos serem maiores em ambientes de temperatura mais  
384 fria (Regra de Bergmann) (ver referências em Blanckenhorn & Demont, 2004) não é  
385 consistente para a explicação da variação morfológica entre as populações de  
386 *Physalaemus spiniger* como para outros anuros (Adam & Church, 2007). Se  
387 considerarmos que as populações de Ilha de Cananéia e Ilha Comprida, são as de menor  
388 tamanho, há uma concordância com a regra de Bergmann (onde em áreas em que a  
389 temperatura é maior, os indivíduos são menores). No entanto, esta concordância é  
390 somente pontual já que a temperatura média das áreas ocupadas pelas populações  
391 analisadas não mostram um gradiente. Desta forma, *P. spiniger* parece apresentar uma  
392 relação íntima com a precipitação e é possível que a variável que influencia mais a sua  
393 distribuição seja a pluviosidade.

394         A diferença no tamanho do corpo, ao longo do gradiente latitudinal de umidade  
395 pode ocorrer porque animais de climas mais áridos se reproduzem mais jovens que  
396 populações de clima úmido. Então, o tamanho do corpo é somente uma consequência do

397 clima na atividade reprodutiva, sendo que o objeto da seleção é a idade da primeira  
398 maturação e os animais que vivem em regiões mais áridas foram selecionados para  
399 estarem aptos a reprodução mais jovens que os de clima úmido (Castellano & Giacoma,  
400 2000). No entanto, é arriscado afirmações nesta escala para o caso de *P. spiniger*, pois  
401 não foram usados métodos para definir a idade dos indivíduos analisados.

402         A distribuição de *P. spiniger* se encaixa na regra de Bergmann (ver referências  
403 em Blanckenhorn & Demont, 2004) quando se considera não a temperatura média  
404 mensal, mas a isothermalidade, que indica o quanto a temperatura varia durante o dia,  
405 isto é, os extremos de temperatura. Mais ao norte, apesar da temperatura média ser mais  
406 constante, a variação da temperatura diária é maior que ao sul. Esta situação, aliada a  
407 ausência do gradiente latitudinal da temperatura média entre as regiões testadas, pode  
408 estar forçando a espécie a atingir tamanhos maiores até que se inicie a atividade  
409 reprodutiva, uma vez que as áreas que elas ocupam têm índices menores de precipitação  
410 em períodos de características ambientais extremas (frio e seco).

411         Caso a diferença entre as populações seja fruto de seleção de um caráter  
412 adaptativo, é possível que a seleção tenha ocorrido no sentido da habilidade de  
413 alimentação. Isto pois nem a distância geográfica nem características ambientais  
414 explicam a diferença entre as populações. A alimentação destas populações pode ser  
415 distinta e variável quanto a disponibilidade de presas ou mesmo quanto a especialização  
416 das populações em adquirir uma ou outra espécie de presa. Um modelo biométrico de  
417 relação entre forma da cabeça e nicho alimentar para anuros prevê que: espécies  
418 adaptadas a preda presas grandes e lentas apresentam longas mandíbulas e cabeça  
419 larga; quando predam presas pequenas e lentas apresentam pequenas mandíbulas e  
420 quando predam presas rápidas apresentam mandíbulas longas (Emerson, 1985). Este  
421 modelo vem da relação entre a largura da cabeça e o assoalho da língua. O assoalho da

422 língua está relacionado com a velocidade de protusão da língua, que é importante para  
423 espécies que predam presas rápidas, e a força da protusão da língua é importante para  
424 espécies que predam presas grandes (Emerson, 1985).

425 Caso a diferença entre as populações não tenha causa adaptativa, é possível que  
426 seja fruto da inércia evolutiva e a fonte da variação seja reflexo da população fundadora,  
427 onde as características genéticas se mantem nas populações.

428

429 Agradecimentos:

430 Agradecemos a Capes e a Fapesp (proc. no. 2008/50325-5 e 2008/52847-9), pelo  
431 auxílio e pelas bolsas de estudos. Aos curadores das coleções CFBH, MHNCI, MZUSP  
432 e ZUEC pelo acesso as coleções e a FBPN pelo apoio logístico. Ao ICMBio pela  
433 licença de coleta (licença nº 16461-1, código de autenticação 24171151).

434 Referências

435 Adams, D. C & J. O. Church 2007. Amphibians do not follow Bergmann's rule.

436 Evolution 62-2:413–420.

437 Alexandrino, J., Ferrand, N. & J. W. Arntzen 2005. Morphological variation in two

438 genetically distinct groups of the Golden Striped Salamander, *Chioglossa*

439 *lusitanica* (Amphibia: Urodela). Contributions to Zoology 74:213–222.

440 Baldissera, F. A., Caramaschi U. & C. F. B. Haddad 2004. Review of the *Bufo crucifer*

441 species group, with descriptions of two new related species (Amphibia, Anura,

442 Bufonidae). Arquivos do Museu Nacional 62:255–282.

443 Benitez-Díaz, H. 1993. Geographic variation in coloration and morphology of the acorn

444 woodpecker. The Condor 95:63-71.

- 445 Bonnet, E., & Y. V. Peer 2002. ZT: a software tool for simple and partial Mantel tests.  
446 Journal of Statistical software 7(10):1-12.
- 447 Blanckenhorn, W.U. & Demont M. 2004. Bergmann and Converse Bergmann  
448 Latitudinal Clines in Arthropods: Two Ends of a Continuum? Integrative and  
449 Comparative Biology 44:413–424 1
- 450 Castellano S. & C. Giacoma 2000. Morphometric and advertisement call geographic  
451 variation in polyploid green toads. Biological Journal of the Linnean Society  
452 70:341-360.
- 453 Cepagri - Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura  
454 ([http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-](http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html)  
455 [paulistas.html](http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html)).
- 456 Cruz, A. G. C., Nascimento, L. B. & R. N. Feio 2007. A new specie of the genus  
457 *Physalaemus* Fitzinger 1826 (Anura: Leuiperidae) from southeastern Brasil.  
458 Amphibia-Reptilia 28:457-465.
- 459 Emerson, S.B. 1985 Skull Shape in Frogs: Correlations with Diet. Herpetologica  
460 41(2):177-188.
- 461 FBPN, 2001. Fundação O Boticário de Proteção da Natureza. Reserva Natural Salto  
462 Morato - Plano de Manejo. Versão preliminar. São José dos Pinhais.
- 463 Frost, D. R. 2009. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 5.3  
464 (12 February, 2009). Electronic Database accessible at  
465 <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/>American Museum of Natural  
466 History, New York, USA.

- 467 Funk, W.C., Angulo, A., Cadwell, J.P., Ryan, M., & D.C. Cannatela 2008. Comparison  
468 of morphology and calls of two cryptic species of *Physalaemus* (Anura:  
469 Leiuperidae). *Herpetologica* 64(3):290–304.
- 470 Haddad, C. F. B. & J. P. Pombal Jr 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger*  
471 (Anura: Leptodactylidae) and descriptions of two new reproductive modes.  
472 *Journal of Herpetology* 32(4):557- 565.
- 473 Hammer, Ø. Harper, D. A. T., & P. D. Ryan 2001. PAST: Paleontological statistics  
474 software package for education and analysis. *Paleontologia Electronica* 4(1):9.
- 475 Hayek, L. C. & W. R. Heyer 2001. Frog morphometrics: a cautionary tale. *Alytes* 18(3-  
476 4): 153-177.
- 477 Hayek, L. C., & W. R. Heyer 2005. Determining sexual dimorphism in frog  
478 measurement data: integration of statistical significance, measurement error,  
479 effect size and biological significance. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*  
480 77(1):45-76.
- 481 Hijimans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & A. Jarvis 2005. Very high  
482 resolution 230 interpolated climate surfaces for global land areas. *International*  
483 *Journal of Climatology* 25:1965–1978.
- 484 Instituto Florestal - [http://www.iflorestal.sp.gov.br/unidades\\_conservacao/busca.asp](http://www.iflorestal.sp.gov.br/unidades_conservacao/busca.asp)
- 485 Legendre, P. & L. Legendre 1998. Numerical ecology. 2nd English edition. Elsevier  
486 Science BV, Amsterdam. xv + 853 pages.
- 487 Manly, B. J. 1994. *Multivariate Statistical Methods: A primer*. Chapman & Hall,  
488 London. 215p.

- 489 Marcelino, V. R.; Haddad, C. F. B., & J. Alexandrino 2009. Geographic distribution and  
490 morphological variation of striped and nonstriped populations of the Brazilian  
491 Atlantic Forest treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). Journal of  
492 Herpetology 43(2):351–361.
- 493 Méndez, M. A., Soto, E. R., Correa, C., Veloso, A., Vergara, E., Sallaberry, M., & P.  
494 Iturra 2004. Morphological and genetic differentiation among Chilean  
495 populations of *Bufo spinulosus* (Anura: Bufonidae) Revista Chilena de Historia  
496 Natural 77:559-567.
- 497 Morrison, D. F. 1976. Multivariate Statistical Methods. McGraw-Hill, Nova York.
- 498 Napoli, M. F., & U. Caramaschi 1999a. Geographic variation of *Hyla rubicundula* and  
499 *H. anataliasiasi*, with the description of a new species (Anura, Hylidae). Alytes  
500 16(3-4): 165-189
- 501 Napoli, M. F. & U. Caramaschi 1999 b. Variation and description of two new Brazilian  
502 *Hyla* of the *H. tritaeniata* complex (Amphibia, Anura, Hylidae). Boletim do  
503 Museu Nacional (407):1-11.
- 504 Peres-Neto P. R. 1995. Introdução a Análises morfométricas. Oecologia Brasiliensis.  
505 Volume II: Tópicos em Tratamentos de Dados Biológicos. Peres- Neto, P.R.;  
506 Valentini, J. L. & Fernandez F. A. S. (Editores) p.57-89. Rio de Janeiro-RJ.
- 507 Puerto, G., Da Grace, M., Salomão A. O., Theakston, R. D. G., Thorpe, R. S., Warrell  
508 D. A. & W. Wuèster 2001. Combining mitochondrial DNA sequences and  
509 morphological data to infer species boundaries: phylogeography of lanceheaded  
510 pitvipers in the Brazilian Atlantic forest, and the status of *Bothrops pradoi*  
511 (Squamata: Serpentes: Viperidae). Journal of Evolutionary Biology 14:527-538.

- 512 Reis S. F. 1988. Morfometria e estatística multivariada em biologia evolutiva. Revista  
513 Brasileira de Zoologia 5(4):571-580.
- 514 Rohlf, F. J & Marcus, L. F. (1993) - A revolution in morphometrics. Trends Ecology  
515 and Evolution 8: 129–132.
- 516 Rosso, A., Castellano, S., & C. Giacoma 2004. Ecogeographic analysis of  
517 morphological and life-history variation in the Italian treefrog. Evolutionary  
518 Ecology 18:303–321.
- 519 Silva, D. M., Cruz A. D., Bastos, R. P., Telles, M. P. C., & J. A. F. Diniz Filho 2008.  
520 Morphometric and genetic differentiation among populations of *Eupemphix*  
521 *nattereri* (Amphibia, Anura, Leiuperidae) from central Brazil. Iheringia 98:493-  
522 500.
- 523 Wüster, W. Otsuka, S., Thorpe, R. S., & A. Malhotra 1992. Morphological variation in  
524 russell's viper in Burma and Thailand. Herpetological Journal 2:9-101.
- 525 Zar J.H. 1999. Biostatistical Analysis. 4th edition. Prentice Hill.

526 TABELA 1 – Localidades de ocorrência de *P. spiniger* utilizadas neste estudo, com sua localização geográfica (graus decimais), clima e  
 527 número de indivíduos analisados (N).

Localidade	Acronônimo	Município- UF	Latitude	Longitude	clima	N
Reserva Natural Salto Morato	RNSM	Guaraqueçaba-PR	-25.255.343	-47.920.249	cfa *	43
Estação Ecológica da Juréia	EEJ	Iguape-SP	-24.524.436	-48.602.335	af	29
Jacupiranga	JAC	Jacupiraga-SP	-24.690.278	-47.938.152	am	33
Ilha de Cananéia	ICN	Cananéia-SP	-24.993.297	-47.581.431	af	9
Parque Estadual Campina do Encantado	PECE	Pariquera-Açu-SP	-24.666.667	-47.850.586	cwa	20
Ilha Comprida	ICP	Ilha Comprida-SP	-24.974.556	-47.800.000	af	9
Parque Estadual Ilha do Cardoso	PEIC	Cananéia-SP	-24.993.297	-47.581.431	af	21

528 (\*) FBPN 2001

529

530 TABELA 2–Valores das medidas morfológicas dos indivíduos de *P. spiniger* medidos nas populações analisadas. Os valores são  
 531 apresentados como média  $\pm$  desvio padrão; coeficiente de variação; N ( indivíduos medidos) – Coeficiente de variação foi dado por: média  
 532 /desvio padrão. Os acronômios das localidades estão na tabela 1 e as siglas das medidas estão nos métodos.

	ICN	PEIC	EEJ	ICP	JAC	PECE	RNSM
						23 para CRC e 20 para as demais	42
N	9	23	30	10	33		
CRC	2,28 $\pm$ 0,03; 76	2,28 $\pm$ 0,03; 76	2,27 $\pm$ 0,03; 75,67	2,26 $\pm$ 0,02; 113	2,28 $\pm$ 0,14; 114	2,26 $\pm$ 0,02;113	2,27 $\pm$ 0,02; 113,5
LC	1,81 $\pm$ 0,02; 90,5	1,81 $\pm$ 0,02; 90,5	1,8 $\pm$ 0,03; 60	1,77 $\pm$ 0,04; 44,25	1,83 $\pm$ 0,14; 91,5	1,8 $\pm$ 0,02;90	1,82 $\pm$ 0,03; 60,67
CC	1,86 $\pm$ 0,03; 62	1,86 $\pm$ 0,03; 62	1,86 $\pm$ 0,03; 62	1,82 $\pm$ 0,02; 91	1,87 $\pm$ 0,21; 62,33	1,85 $\pm$ 0,02;92,,5	1,84 $\pm$ 0,03; 61,33
CF	1,97 $\pm$ 0,02; 98,5	1,95 $\pm$ 0,03; 65	1,94 $\pm$ 0,03; 64,67	1,94 $\pm$ 0,02; 97	1,94 $\pm$ 0,14; 97	1,95 $\pm$ 0,02;97,5	1,94 $\pm$ 0,03; 64,67
CT	1,98 $\pm$ 0,03; 66	1,96 $\pm$ 0,02; 98	1,96 $\pm$ 0,02; 98	1,94 $\pm$ 0,02; 97	1,95 $\pm$ 0,14; 97,5	1,95 $\pm$ 0,02;97,5	1,95 $\pm$ 0,02; 97,5
CP	1,96 $\pm$ 0,04; 49	1,96 $\pm$ 0,03; 65,33	1,95 $\pm$ 0,03; 65	1,92 $\pm$ 0,03; 64	1,96 $\pm$ 0,14; 98	1,94 $\pm$ 0,03;64,67	1,96 $\pm$ 0,02; 98
DO	1,33 $\pm$ 0,05; 26,6	1,36 $\pm$ 0,04; 34	1,34 $\pm$ 0,05; 26,8	1,29 $\pm$ 0,04; 32,25	1,35 $\pm$ 0,28; 33,75	1,33 $\pm$ 0,04;33,25	1,3 $\pm$ 0,05; 26
DIO	1,37 $\pm$ 0,05; 27,4	1,3 $\pm$ 0,05; 26	1,32 $\pm$ 0,05; 26,4	1,35 $\pm$ 0,05; 27	1,33 $\pm$ 0,28; 33,25	1,36 $\pm$ 0,05;27,2	1,34 $\pm$ 0,04; 33,5
DON	1,24 $\pm$ 0,04; 31	1,17 $\pm$ 0,08; 14,62	1,14 $\pm$ 0,05; 22,8	1,23 $\pm$ 0,06; 20,5	1,19 $\pm$ 0,35; 23,8	1,22 $\pm$ 0,06;20,33	1,2 $\pm$ 0,05; 24
DOF	1,43 $\pm$ 0,02; 71,5	1,4 $\pm$ 0,05; 28	1,38 $\pm$ 0,06; 23	1,42 $\pm$ 0,04; 35,5	1,43 $\pm$ 0,28; 35,75	1,42 $\pm$ 0,04;35,5	1,38 $\pm$ 0,08; 17,25
DNF	0,99 $\pm$ 0,1; 9,9	0,99 $\pm$ 0,13; 7,62	0,99 $\pm$ 0,26; 3,81	0,93 $\pm$ 0,17; 5,47	1,05 $\pm$ 0,7; 10,5	0,95 $\pm$ 0,18;5,28	0,96 $\pm$ 0,11; 8,73

533

534

535 TABELA 3–Escores das medidas morfométricas de *P. spiniger* em relação a cada  
 536 componente, os autovalores de cada componente principal, a porcentagem de explicação  
 537 e a explicação acumulada dos componentes, resultantes da análise de componentes  
 538 principais, a partir da matriz de dados de variância e covariância.

	CP1	CP2	CP3	CP4
CRC	-0,018	0,135	-0,214	0,296
LC	-0,022	0,151	-0,126	0,248
CC	-0,030	0,099	-0,277	0,248
CF	0,009	0,098	-0,123	0,191
CT	-0,009	0,091	-0,136	0,229
CP	-0,024	0,115	-0,166	0,273
DO	-0,054	0,116	-0,831	-0,168
DIO	0,032	0,346	0,252	0,621
DON	0,160	0,739	0,183	-0,241
DOF	-0,189	0,489	-0,019	-0,390
FOC	-0,966	0,020	0,109	0,040
Autovalor	0,028	0,005	0,003	0,002
% variância	64,605	12,111	6,666	5,433
% variância acumulada	64,605	76,716	83,382	88,815

539

540

541 TABELA 4– Autovetores para cada eixo resultantes da análise de variáveis canônicas a  
 542 partir da matriz de dados de medidas morfológicas de sete diferentes populações de  
 543 *Physalaemus spiniger*.

	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
CRC	-0,066	0,226	0,180
LC	0,185	0,577	0,418
CC	-0,447	-0,184	0,285
CF	-0,053	-0,392	0,165
CT	-0,159	-0,129	-0,512
CP	-0,127	0,437	-0,131
DO	-0,565	-0,033	0,336
DIO	0,318	-0,227	0,022
DON	0,542	-0,198	0,323
DOF	-0,018	-0,347	0,345
FOC	-0,052	0,098	0,260

544

545

546 TABELA 5–Escores dos fatores abióticos para cada uma das localidades em relação a  
 547 cada componente, os autovalores, a porcentagem de explicação e a explicação  
 548 cumulativa dos componentes, resultantes da análise de componentes principais, a partir  
 549 da matriz de dados de correlação.

	CP1	CP2	CP3
RNSM	-3,075	-0,055	-0,431
PEIC	-4,703	1,862	-1,157
ICN	0,407	-4,001	0,344
ICP	-0,251	-2,892	0,544
EEJ	0,784	2,425	2,921
PECE	2,339	2,031	-0,431
JAC	4,499	0,631	-1,790
Autovalor	9,687	6,374	2,310
% variância	50,986	33,547	12,157
variação acumulada (%)	50,986	84,533	96,690

550

551

552 TABELA 6 – Correlação linear de Spearman entre as medidas morfológicas de *P.*  
 553 *spiniger* e a variável “clima” proveniente do CP1 que representa 99% da variação entre  
 554 as sete localidades analisadas e entre as medidas morfológicas e a latitude. NS = não  
 555 significativo.

	Clima		Latitude	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
CRC	0,044	NS	-0,031	NS
LC	0,117	NS	-0,182	0,019
CC	0,291	0,000	0,226	0,003
CF	-0,018	NS	0,059	NS
CT	-0,105	NS	-0,010	NS
CP	0,003	NS	-0,114	NS
DO	0,216	0,005	0,233	0,002
DIO	0,033	NS	-0,025	NS
DON	-0,099	NS	-0,215	0,005
DOF	0,155	0,046	0,052	NS
DNF	0,126	NS	0,185	0,017

556

557 Legenda das figuras:

558 FIG. 1 – Esquema representativo das medidas morfológicas registradas nos indivíduos de  
559 *Physalaemus spiniger*. Desenho adaptado de Cruz et al 2007. A) visão dorsal de um  
560 indivíduo inteiro, indicando as medidas: CRC - comprimento rostro-cloacal; CC -  
561 comprimento da cabeça; LC - largura da cabeça; CP - comprimento do pé (do calo  
562 metatarsal interno até a ponta do dedo mais longo); CT - comprimento da tibia; CF -  
563 comprimento do fêmur; B) visão dorsal da cabeça, indicando as medidas DIO -  
564 distância inter-ocular; DO - diâmetro do olho; DOF - distância olho-focinho; DON -  
565 distância olho-narina; DNF -distância narina-focinho ( $DNF = DOF - DON$ ).

566

567 FIG. 2 – Localidades de registro de *Physalaemus spiniger*. 1 - P.E. Carlos Botelho; 2 - P.  
568 E. Intervales; 3 - E.E. da Juréia (EEJ); 4 - P.E.Turístico do Alto Ribeira (PETAR); 5 -  
569 P.E. Campina do Encantado (PECE), 6 – Jacupiranga (JAC); 7 - Iguape, 8 - Ilha  
570 Comprida (ICP); 9 - Ilha de Cananéia (ICN); 10 - P.E Ilha do Cardoso (PEIC), 11 - R.  
571 N. Salto Morato (RNSM); 12 - Guaraqueçaba. As localidades identificadas pelo círculo  
572 preto foram utilizadas na análise e as representadas pelo círculo cinza foram descartadas  
573 das análises.

574

575 FIG. 3– Análise dos componentes principais das variáveis morfométricas, em matriz de  
576 dados de variância e covariância. Os eixos apresentam a porcentagem de explicação de  
577 cada um dos componentes. Cada elipse representa uma população analisada. ICN – Ilha  
578 de Cananéia, ICP – Ilha Comprida, PEIC – Parque Estadual Ilha do Cardoso, RNSM –  
579 Reserva Natural Salto Morato, PECE - Parque Estadual Campina do Encantado, EEJ –  
580 Estação Ecológica da Juréia, JAC- Jacupiranga.

581

582 FIG. 4– Análise das variáveis canônicas com base em matriz de dados morfológicos de  
583 *P. spiniger*. Cada elipse representa a distribuição dos dados dos indivíduos das  
584 populações analisadas no espaço multivariado.

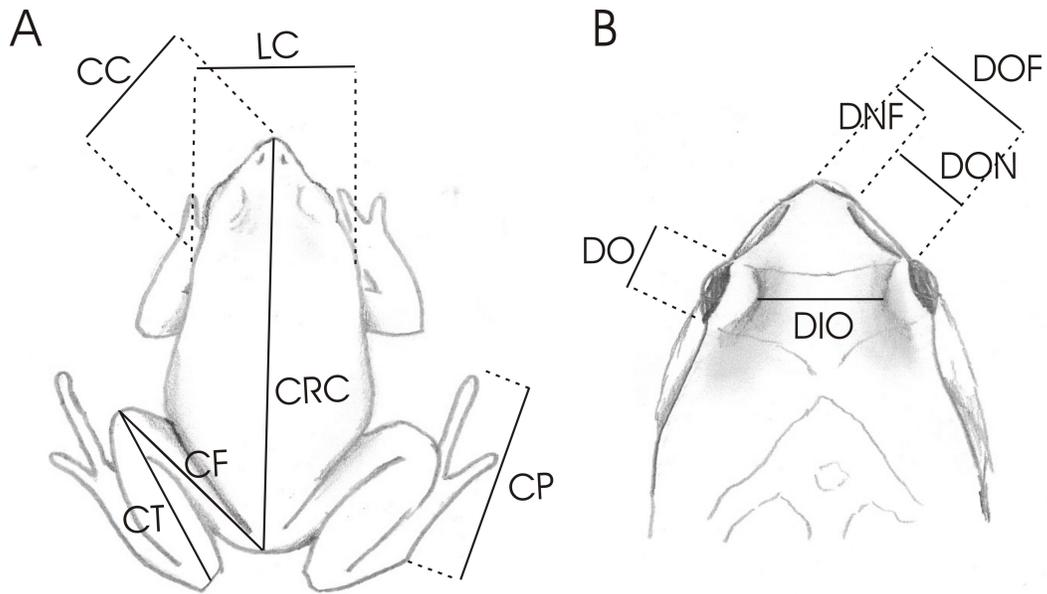
585

586 FIG. 5– Análise dos componentes principais das variáveis climáticas com base na matriz  
587 de dados de correlação. A) Componentes 1 e 2; B) componentes 2 e 3. Os eixos  
588 apresentam a porcentagem de explicação de cada um dos componentes. Cada ponto  
589 representa uma das localidades analisada. ICN – Ilha de Cananéia, ICP – Ilha Comprida,  
590 PEIC – Parque Estadual Ilha do Cardoso, RNSM – Reserva Natural Salto Morato,  
591 PECE - Parque Estadual Campina do Encantado, EEJ – Estação Ecológica da Juréia,  
592 JAC- Jacupiranga.

593

594 FIG.6 – Representação gráfica do resultado do teste de Mantel. A correlação entre as  
595 matrizes de dissimilaridade física (Morfologia), distância geográfica (Geografia) e  
596 dissimilaridade climática (Clima).

597

598 **FIG. 1**

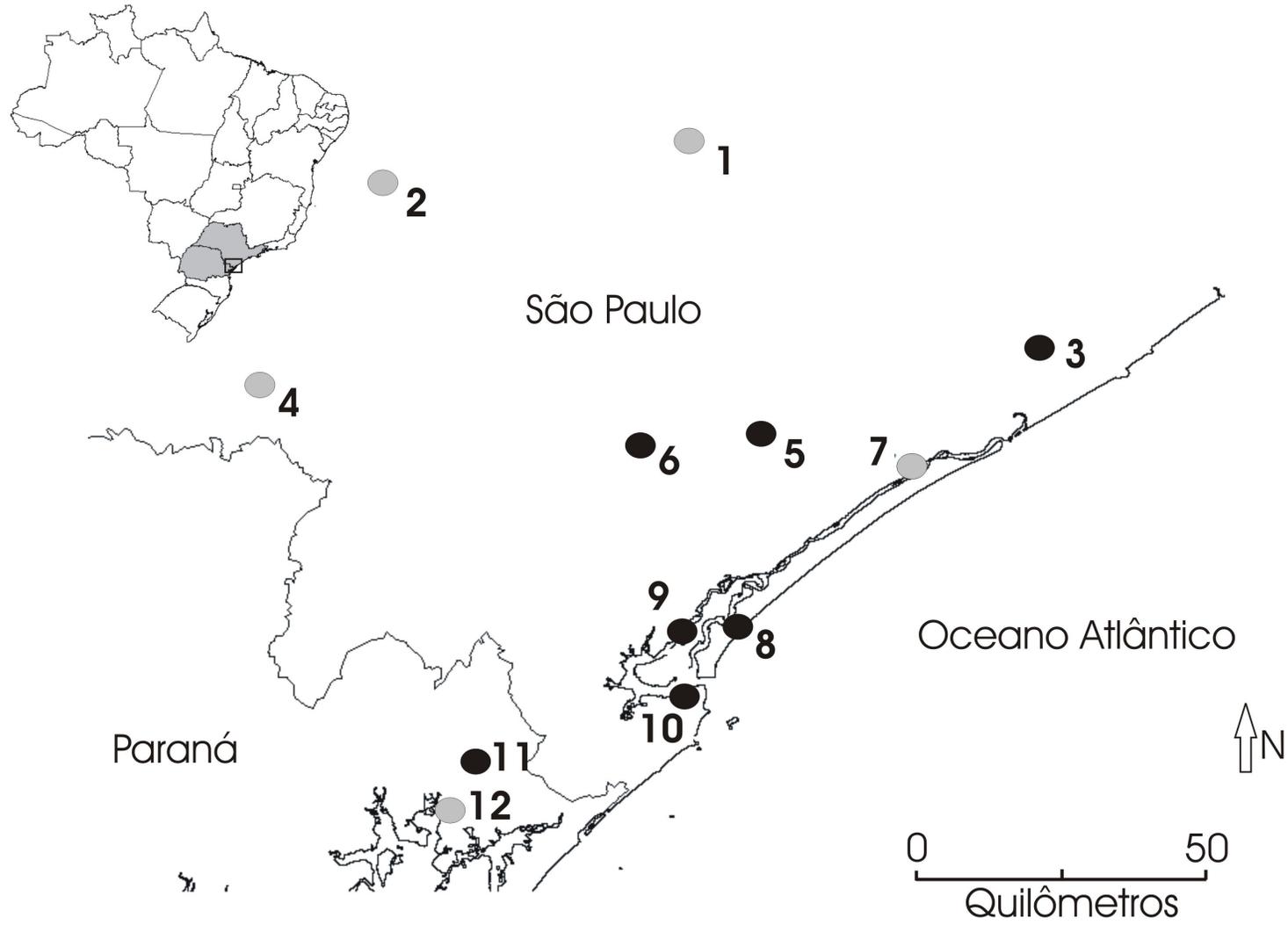
599

600

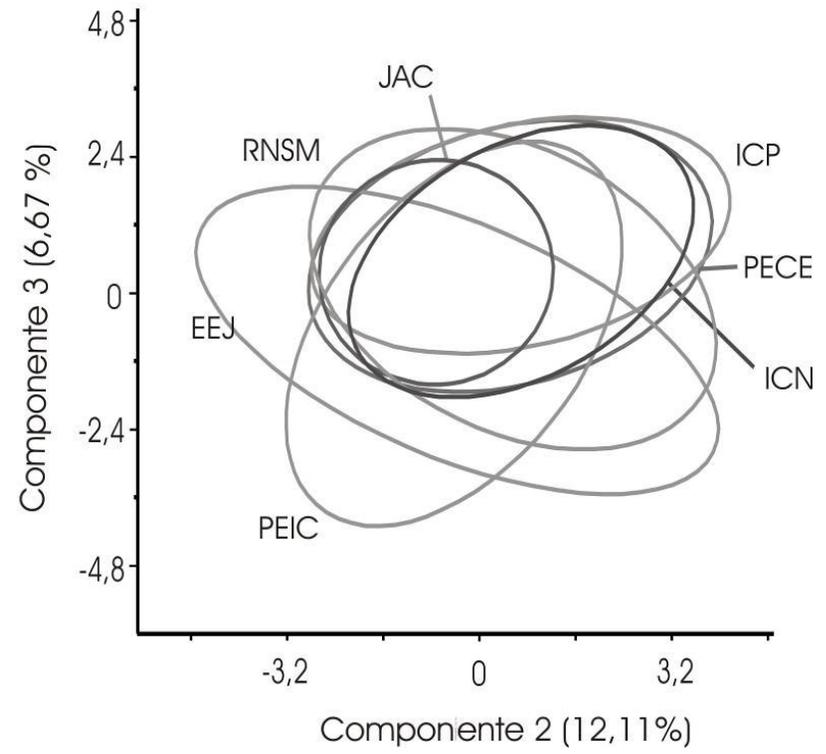
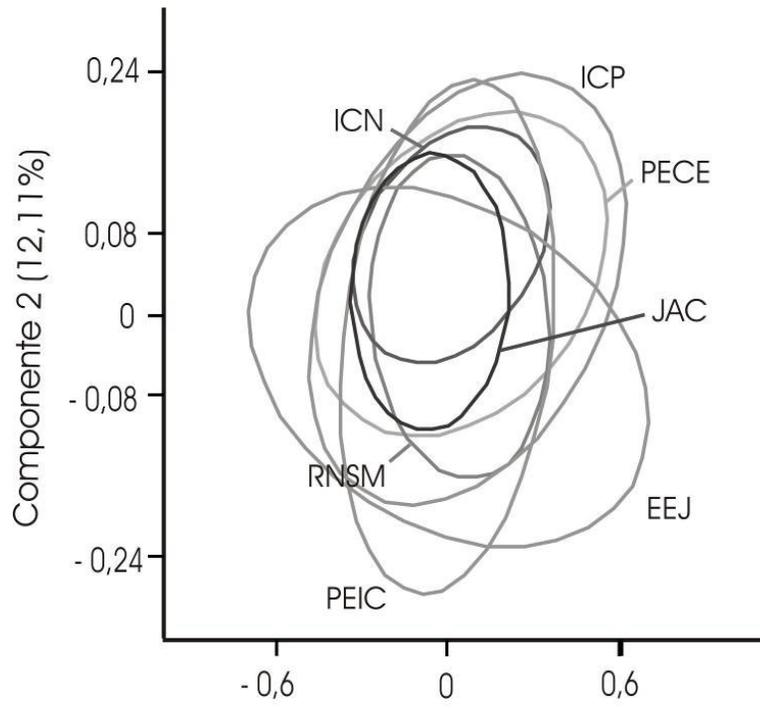
601

602 **FIG. 2**

603



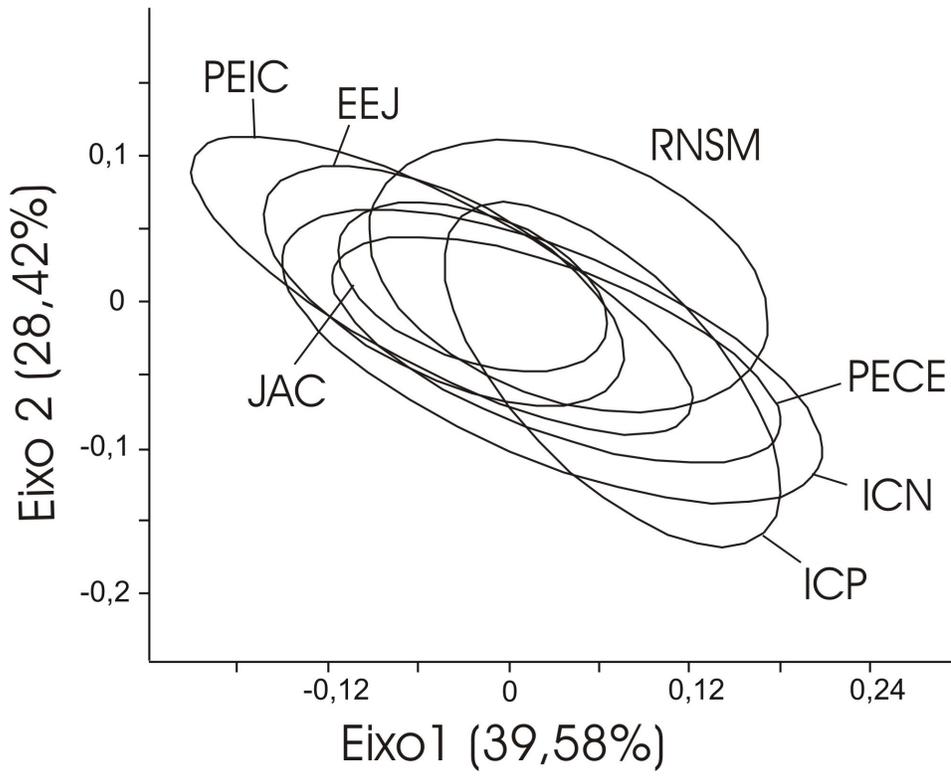
604 **FIG. 3**



605

606

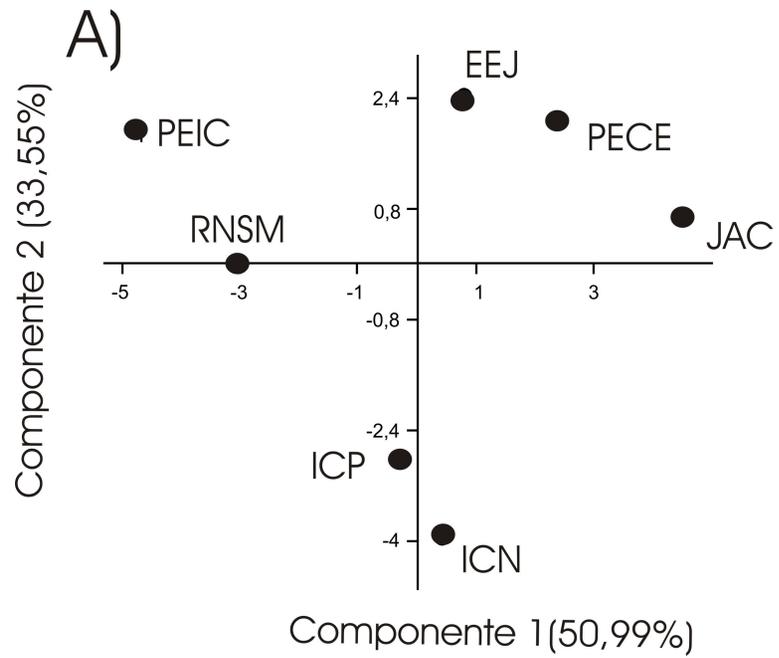
607 **FIG. 4**



608

609 **FIG.5-**

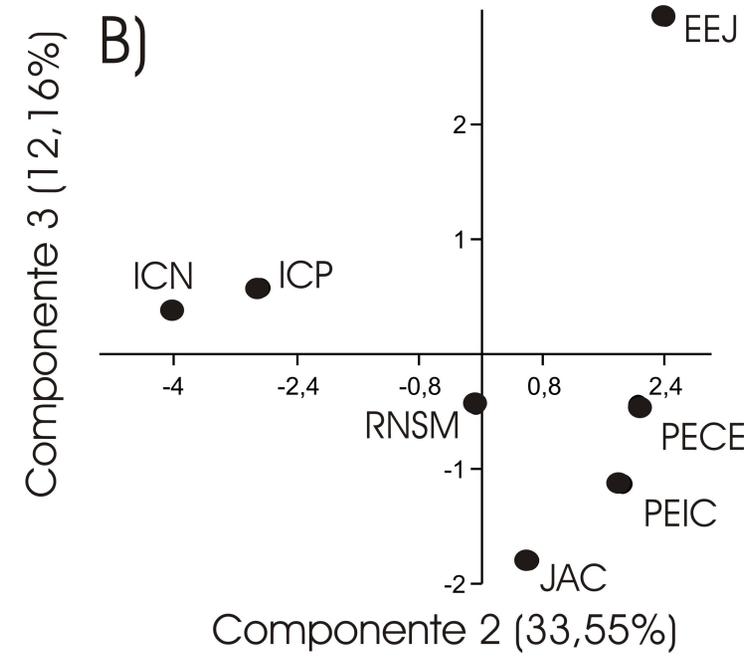
610

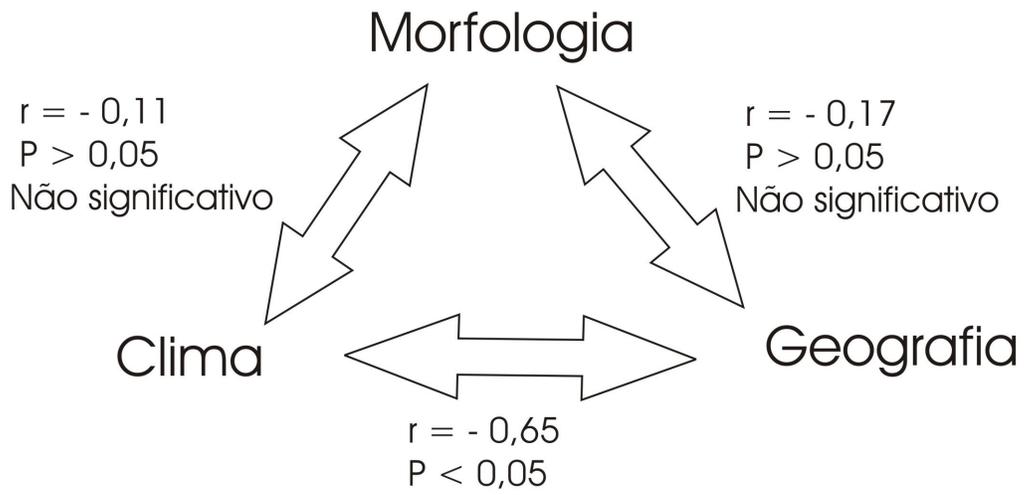


611

612

613



614 **FIG 6**

615

616

617

618 Author Addresses:

619

620 <sup>1</sup>*Programa de pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do*  
621 *Paraná. Setor de Ciências Biológicas, Caixa Postal 19031, CEP 81531-980, Curitiba,*  
622 *Paraná, Brasil. E-mail: thaisreginacosta@gmail.com*

623

624 <sup>2</sup>Present address: Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas  
625 Departamento de Zoologia, Caixa Postal 19020 CEP 81531-980, Curitiba, Paraná,  
626 Brasil.

627

628 <sup>3</sup>Present address: Museu de Zoologia “Prof. Adão José Cardoso”, Universidade  
629 Estadual de Campinas (UNICAMP- IB), Rua Albert Einstein s/n, Campinas, São Paulo,  
630 CEP13083-863 E-mail: toledolf2@yahoo.com

631

632 <sup>4</sup>Corresponding author: Thais R. N. Costa: thaisreginacosta@gmail.com

633

634 Anexo

635 Coleções consultadas, procedência e número de tombo dos exemplares de *P. spiniger*

636 medidos.

637

638 **CFBH** (EEJ): 307-10, 410, 833, 835, 1246, 12484-88;12490-94; 13524, 13800-01,

639 13806; (PEIC): 312-13; 315-17; 319-21, 4907, 6353, 7252, 7924, 10693-94; 12489;

640 (INC): 14899, 14901, 14902, 15800-01, 18865-66, 18997; (PECE): 14903, 15799-803,

641 17021, 17043, 17070-74, 17078, 17080-81, 17122, 17819, 17823, 17839, 18865-66,

642 18923-24, 18926-28, 18997, 19091; (ICP): 15803, 17043, 17122, 17819, 17823, 17839,

643 19130, 19600 – **MHNCI** (RNSM): 4808-10, 4926 – **MZUSP** (EEJ): 76562, 82404;

644 (JAC): 85095- 96, 85098-03, 85105-27 – **ZUEC** (JAC): 924, 3250; (PEIC): 6371-72,

645 6878-82; (EEJ): 9757, 9807-08, 9818; (PECE): 14525; (ICP): 14526-27; (RNSM):

646 12518, 14508-24, 14555-60, 14562-69, 14572-78.

1 **Capítulo 3 - Biologia reprodutiva de *Physalaemus spiniger* (Anura, Leiuperidae),**  
2 **com a descrição de um novo modo reprodutivo para o gênero**

3 Thais R. N. Costa<sup>1,3</sup> & Luís Felipe Toledo<sup>1,2</sup>

4

5 <sup>1</sup>*Programa de pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do*  
6 *Paraná. Setor de Ciências Biológicas, Caixa Postal 19031, CEP 81531-980, Curitiba,*  
7 *Paraná, Brasil. E-mail: [thaisreginacosta@gmail.com](mailto:thaisreginacosta@gmail.com)*

8

9 <sup>2</sup>*Museu de Zoologia “Prof. Adão José Cardoso”, Universidade Estadual de Campinas*  
10 *(UNICAMP- IB), Rua Albert Einstein s/n, Campinas, São Paulo, CEP13083-863 E-*  
11 *mail: [toledolf2@yahoo.com](mailto:toledolf2@yahoo.com)*

12

13 <sup>3</sup>CORRESPONDENCE:e-mail, [thaisreginacosta@gmail.com](mailto:thaisreginacosta@gmail.com)

14

15 Revista adotada para formatação: Herpetologica

16 Abstract:

17 *Physalaemus spiniger* (Miranda Ribeiro, 1926) belongs to the *P. spiniger* species group  
18 and presents three known reproductive modes: 11, 28 and 24. We studied a population  
19 of the county of Guaraqueçaba, Paraná, Southern Brazil. In that population we observed  
20 a fourth reproductive mode for the species (mode number 29), which consists of a foam  
21 nest with eggs and early larval stages in basins, subsequent to flooding, exotrophic  
22 tadpoles developing in ponds. The bases used were caused by fall of vegetation or water  
23 drainage. The observations occurred between August 2008 and August 2009.

24 Vocalizations were heard mostly during the night, and also in days when rained during  
25 previous night. The amplexus is axillary and the size relationship between male and  
26 female is 0.96. Foam nests have around 70 eggs with 1.56 mm diameter. Foam nests  
27 present 94 % of fertilization success. There was no correlation between female snout-  
28 vent length and number of eggs. Males are smaller than females and females select for  
29 larger males. The courtship behavior is also described for the first time after oviposition  
30 still. Females presented immature eggs in different stages in the abdomen. This could  
31 suggest that this species makes multiple clutches. This would increase the female  
32 reproductive success by making clutches at different sites and with different males. It is  
33 certainly the Leiuperidae species with the highest levels of reproductive plasticity  
34 already reported.

35 *Key words:* Anura, Behavior, *Physalaemus*, Reproduction, Reproductive  
36 modes.

37 Resumo:

38 *Physalaemus spiniger* (Miranda Ribeiro, 1926), pertence ao grupo de espécies de *P.*  
39 *signifer* e para esta espécie são conhecidos três modos reprodutivos: 11, 14 e 28.

40 Estudamos a população de Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. Nesta população observamos  
41 um quarto modo reprodutivo para esta espécie (modo numero 29), que consiste em ovos  
42 e larvas em ninhos de espuma em depressões no solo e que, posterior a inundação,  
43 apresenta os girinos exotróficos se desenvolvendo na poça. As depressões que a espécie  
44 utiliza foram formadas por queda de vegetação ou drenagem de água. As observações  
45 em campo foram feitas tanto no período noturno como no período diurno entre agosto  
46 de 2008 e agosto de 2009. Machos vocalizaram com maior frequência durante a noite,  
47 mas também foram observados em atividade de vocalização durante todo o dia em dias  
48 chuvosos, ou em dias após chuvas intensas a noite. O amplexo é axilar e a razão de  
49 tamanho de um casal é de 0,96. As desovas possuem em média 70 ovos com cerca de  
50 1,5 mm de diâmetro. O sucesso de fecundação é de 94 %. Não foi encontrada correlação  
51 entre o comprimento rostro-cloacal das fêmeas e a quantidade de óvulos depositados.  
52 Os machos são menores que as fêmeas e as fêmeas selecionaram os machos que  
53 apresentavam a maior razão de tamanho em relação a elas. Foi descrito um  
54 comportamento de corte elaborado, inédito para a família, incluindo, pelo menos,  
55 comunicação sonora e tátil. Após a desova as fêmeas permaneceram com óvulos em  
56 diferentes estágios de desenvolvimento nos ovários, indicando que a espécie pode  
57 apresentar uma estratégia de múltiplas desovas por estação reprodutiva. Tal estratégia  
58 pode conferir um acréscimo no sucesso reprodutivo, uma vez que permite as fêmeas  
59 realizar postura em diferentes locais e com diferentes machos. Certamente é a espécie  
60 da família Leiuperidae que possui maior plasticidade reprodutiva conhecida.  
61 Palavras chave: Anura, comportamento, Physalaemus, reprodução, modos reprodutivos.

## 62 Introdução

63 O gênero *Physalaemus* está inserido na família Leiuperidae (Grant et al., 2006) e  
64 é composto atualmente por 42 espécies, divididas em sete grupos: *P. albifrons* (quatro  
65 espécies), *P. cuvieri* (nove espécies), *P. deimaticus* (três espécies), *P. gracilis* (cinco  
66 espécies), *P. henselii* (três espécies), *P. olfersii* (cinco espécies) e *P. signifer* (13  
67 espécies) (Nascimento et al., 2005; Pimenta et al., 2005; Weber et al., 2005; Cruz et al.,  
68 2007).

69 Neste gênero o amplexo é axilar e a desova é realizada em ninhos de espuma  
70 com as larvas se desenvolvendo em corpos d'água lóticos ou lênticos (Brasileiro &  
71 Martins, 2006). O padrão de comportamento reprodutivo do gênero *Physalaemus* pode  
72 variar de explosivo (Wells, 1977), como em *P. marmoratus* (Reinhardt and Lütken,  
73 1862) (Brasileiro & Martins, 2006), a prolongado (Wells, 1977), como em *P. cuvieri*  
74 Fitzinger, 1826 (Barreto & Andrade, 1995; Brasileiro & Martins, 2006).

75 O grupo *P. signifer* possui tamanho de pequeno a moderado (14,9 a 28,5 mm no  
76 comprimento rostro-cloacal), o corpo delgado, ausência de tubérculos tarsais, a presença  
77 de tubérculos metatarsais cônicos sem margens córneas, presença de pregas tarsais, saco  
78 vocal bem desenvolvido (exceto em *P. bokermanni*) e glândulas inguinais que variam  
79 de pequenas a grandes e estão associadas a ocelos negros. (Cruz et al. 2007). O grupo  
80 distribui-se dentro do domínio de Floresta Atlântica (sensus Ab'Saber, 1977) desde o  
81 estado de Alagoas ao estado do Rio Grande do Sul (Cruz et al., 2007).

82 *Physalaemus spiniger* (Miranda Ribeiro, 1926) pertence ao grupo *P. signifer*.  
83 Foi descrita em 1926 por Miranda-Ribeiro sob o nome de *Engystomops spinigera*, tendo  
84 como localidade tipo o município de Iguape, estado de São Paulo, Brazil. Foi re-descrita  
85 por Haddad & Pombal (1998), os quais reconhecem e descrevem três modos  
86 reprodutivos para a espécie: modo 11 (Haddad & Prado, 2005), ninhos de espuma

87 depositados em poças de água lântica e girinos exotróficos desenvolvendo nas mesmas  
88 poças; modo 14 (Haddad & Prado, 2005), ninho de espuma depositado em água  
89 acumulada nas axilas de bromélias terrestres e com girinos exotróficos se  
90 desenvolvendo nas poças; e modo 28 (Haddad & Prado, 2005), ninho de espuma  
91 depositados em locais úmidos no chão da floresta, próximo à poças, nas quais os girinos  
92 exotróficos se desenvolvem. O cariótipo é composto por 22 pares cromossômicos e a  
93 região organizadora de nucléolos é conhecida (Silva et al.,2000). Além destas  
94 informações, nada mais está disponível sobre a espécie.

95         Desta forma, o presente estudo visou observar uma população natural de *P.*  
96 *spiniger* para obter informações sobre sua biologia reprodutiva. Foram descritos os  
97 comportamentos durante a atividade de vocalização e postura de ovos, características do  
98 ovo e da desova, observados modos reprodutivos e relações alométricas e de esforço  
99 reprodutivo de fêmeas e machos. Foi também verificada a presença de seleção sexual  
100 através de experimentos.

## 101 Material e Métodos

### 102 Área de estudo

103         A área de estudo está inserida na Reserva Particula do Patrimônio Natural  
104 Reserva Natural Salto Morato (RNSM), no município de Guaraqueçaba, Paraná, sul do  
105 Brasil (25°10'56,61"S a 48°17'51,80"W). Além desta área, foram realizadas  
106 observações em uma propriedade particular vizinha à RNSM (25°11'7,04"S a  
107 48°17'50,91"W). Ambas as áreas pertencentes à Área de Proteção Ambiental de  
108 Guaraqueçaba (20 a 930 m de altitude), situada dentro do bioma Mata Atlântica em área  
109 com Floresta Ombrófila Densa Submontana (FBPN, 2001).

110 A classificação do clima é subtropical úmido (Cfa) segundo a classificação de  
111 Köppen (1900), com temperatura média anual em torno de 21° C com a temperatura  
112 média do mês mais frio igual a 17° C. Os verões são quentes e as geadas pouco  
113 frequentes com uma tendência da concentração das chuvas nos meses de verão (entre  
114 dezembro e fevereiro), no entanto, sem uma estação seca bem definida. Os índices  
115 pluviométricos mostram mais de 2000 mm anuais e a umidade relativa do ar média  
116 anual é de 85 % (FBPN, 2001).

117 O ambiente amostrado foi a Estrada da Figueira, que é pouco utilizada por  
118 automóveis, onde ocorre o acúmulo de água em poças longas, estreitas e rasas, além de  
119 poças adjacentes. Além deste, um ambiente de pastagem em uma propriedade particular  
120 no entorno da reserva também foi amostrado. A pastagem teve o solo revolvido com  
121 arado para a derrubada de *Braquiaria* sp., onde formaram-se valetas e a água se  
122 acumula sob uma vegetação de gramínea baixa.

### 123 Informações climáticas

124 Informações sobre a precipitação, temperatura média e umidade relativa do ar  
125 diárias foram obtidas junto ao Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), estação de  
126 Guaraqueçaba, Paraná, Brasil.

### 127 Observações em campo

128 As observações em campo foram feitas mensalmente entre agosto e novembro  
129 de 2008 com duração de quatro a sete dias consecutivos. Observações esparsas foram  
130 realizadas entre os meses de novembro de 2008, fevereiro de 2009 e agosto de 2009. As  
131 observações eram iniciadas aproximadamente 30 minutos após o pôr do sol e duravam  
132 por quatro ou cinco horas. Foram realizadas também observações ao longo do dia, em  
133 dias chuvosos ou imediatamente seguintes a chuvas fortes.

134 Através dos métodos de animal focal, seqüências e de todas as ocorrências  
135 (Altmann, 1974; Lehner, 1979; Martin & Bateson, 1986) observamos o comportamento,  
136 o sítio de vocalização, o período e a temporada de atividade de vocalização dos machos  
137 e também o comportamento de amplexo e de deposição de ovos.

138 Casais em amplexo foram capturados e tiveram seu comprimento rostro-cloacal  
139 (CRC) medidos para identificar uma razão de tamanho entre os indivíduos. As medidas  
140 foram realizadas com paquímetro digital com precisão de 0,01 mm. A massa dos  
141 indivíduos foi registrada em laboratório, em balança de precisão (0,0001g) com os  
142 animais mortos e conservados.

143 Foram coletadas 31 desovas em campo e levadas para laboratório. Foi registrado  
144 o número de ovos e determinado o sucesso de fecundação pela razão entre o número  
145 total de ovos fecundados dividido pelo número de óvulos liberados. Os ovos (N = 136)  
146 tiveram seu diâmetro medido a partir de fotografias com auxílio do programa Image J  
147 1.42 (Abramoff et al., 2004). Oito fêmeas foram capturadas após a desova para verificar  
148 se há correlação entre o CRC e a quantidade de óvulos liberados.

#### 149 Observações em laboratório

150 Ao total, foram capturadas quatro fêmeas com óvulos no abdome e 14 machos  
151 em atividade de vocalização. Estes indivíduos foram mantidos em um mesmo terrário  
152 para a observação do comportamento de corte.

153 Em laboratório foram oferecidos, de dois a oito, machos a fêmeas com óvulos no  
154 abdome para testar a preferência da fêmea com relação ao tamanho (CRC) e massa dos  
155 machos. Os indivíduos utilizados no teste foram coletados no campo, sendo escolhidos  
156 machos que estavam em atividade de vocalização e as fêmeas grávidas (i.e., maduros  
157 sexualmente), tomando o cuidado para que fossem testados indivíduos de uma mesma  
158 área estudada, de forma que a fêmea escolhesse algum macho da sua área de ocorrência.

159 O intervalo de tempo entre o momento da captura e a experimentação não ultrapassou  
160 três horas.

#### 161 Análise estatística

162 Os valores são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (variação). As análises  
163 estatísticas, Teste t de student e de correlação linear de Pearson (dados paramétricos) ou  
164 Spearman (dados não paramétricos) foram realizadas através do software PAST 1.9  
165 (Hammer et al., 2001). Foram considerados significativos valores quando  $P < 0,05$ .

#### 166 Resultados

##### 167 Dados climáticos

168 Durante o período de estudo (janeiro de 2009 a julho de 2009) na área estudada,  
169 a temperatura média registrada foi de  $20,5 \pm 3$  °C (15,6 – 24,6), a precipitação de  $8,30 \pm$   
170  $5,6$  mm (1,1 – 24,1) e a umidade relativa do ar média foi de  $88,1 \pm 2,1$  % (83,7 – 93,8).

##### 171 Atividade de vocalização

172 Durante o período de estudo, machos de *P. spiniger* vocalizaram por pouco mais  
173 de seis meses (entre agosto de 2008 até meados de fevereiro de 2009) nas áreas  
174 estudadas (Figura 1).

175 Machos de *P. spiniger* foram observados vocalizando com a parte anterior do  
176 corpo fora da água em locais de pouca profundidade, com até cinco centímetros de  
177 coluna d'água (Figura 2). Alguns machos também foram observados vocalizando no  
178 chão, sobre o solo úmido, expostos ou abrigados sob a gramínea marginal de poças ou  
179 alagados em clareiras no interior de mata em estágio secundário de regeneração.

180 Machos foram observados em atividade de vocalização no período noturno com  
181 maior frequência. O turno de vocalização se estendeu por toda a noite. Nos dias

182 seguintes a noites de chuva intensa os machos vocalizaram em locais abrigados (sob a  
183 vegetação) durante todo o dia, exceto nas horas mais quentes, entre 12h30 e 14h.

184 O amplexo observado foi axilar (Figura 3) e a razão de tamanho entre macho e  
185 fêmea em amplexo foi  $0,96 \pm 0,06$  ( $0,88 - 1,06$ ;  $n = 9$ ), ou seja, o macho é em média 4  
186 % menor que a fêmea.

#### 187 Seleção sexual

188 Os machos da população estudada são menores (CRC =  $18,36 \text{ mm} \pm 0,08$  ( $16,38$   
189  $- 21,54$ ;  $n = 97$ ) que as fêmeas (CRC =  $19,58 \text{ mm} \pm 0,27$  ( $17,45 - 22,53$ ;  $n = 20$ ) ( $t =$   
190  $4,21$ ;  $P < 0,05$ ;  $F = 1,381$ ). Machos [ $0,60 \text{ g} \pm 0,1$  ( $0,40 - 0,79$ ;  $n = 18$ )] não diferiram  
191 quanto a massa das fêmeas depois da desova [ $0,67 \text{ g} \pm 0,09$  ( $0,48 - 0,79$ ;  $n = 8$ )].

192 Machos que amplexaram fêmeas foram maiores [CRC =  $18,64 \text{ mm} \pm 0,21$  ( $17,94 -$   
193  $19,65$ ;  $n = 8$ )] que os machos rejeitados por elas [(CRC =  $17,31 \text{ mm} \pm 0,26$  ( $16,38 -$   
194  $19,18$ ;  $n = 10$ ) ( $t = 3,08$ ;  $P < 0,05$ ;  $F = 1,84$ )], porém não mais pesados ( $t = 1,76$ ;  $P >$   
195  $0,05$ ;  $F = 1,43$ ). Na situação experimental em que (em terrário) machos foram  
196 oferecidos a fêmeas com óvulos no abdôme, na maioria das vezes (75 %,  $N = 4$ ), a  
197 fêmea foi amplexada pelo maior macho do terrário.

#### 198 Corte

199 Em laboratório, foi observado o comportamento de corte de um casal. A fêmea  
200 caminhou na direção do macho (Figura 4.A) e tocou-o nas costas com sua mão por  
201 aproximadamente 10 segundos (Figura 4.B). Com três pequenos saltos virou de costas  
202 para ele (Figura 4.C) e andou para tras (Figura 4.D) até ficar com sua pata traseira  
203 direita sobre as pernas dele (Figura 4.E). Aproximadamente dez segundos depois, a  
204 fêmea deu quatro leves golpes, similares a coices, no macho (dois golpes em duas  
205 vezes) com a perna direita. Com saltos curtos ela se deslocou para frente dele (Figura  
206 4.F) e o macho saltou e abraçou a fêmea no meio do corpo (Figura 4.G). Depois de

207 alguns segundos parados, ele vagorosamente move-se para frente até firmar-se em  
208 amplexo axilar (Figura 3). Em nenhum momento, durante a corte ou depois do amplexo  
209 o macho vocalizou. Porém, em outro casal formado em laboratório, o macho, enquanto  
210 amplexado a fêmea vocalizou (ver Capítulo 1: canto de corte).

211 Desova

212 Desovas foram encontradas entre os meses de setembro de 2008 a março de  
213 2009 (Figura 1). Os casais em amplexo (N = 5), formados em campo ou em laboratório  
214 se deslocam pelo ambiente para a escolha do sítio de desova. O momento inicial da  
215 construção do ninho de espuma não foi observado em campo e desovas foram  
216 encontradas em locais onde os machos comumente vocalizam (Figura 2). Foram  
217 encontradas duas desovas de *Physalaemus spiniger* em buracos no solo (Figura 5b).  
218 Não havia poça principal na área onde a desova se encontrava. A poça mais próxima  
219 encontrava-se a mais de três metros de distância do buraco utilizado para a desova e a  
220 presença da desova no buraco não foi decorrente da evaporação da poça. Com o avanço  
221 da estação chuvosa, toda a área ficou alagada, formando uma grande poça. Desovas em  
222 buracos no solo também foram encontradas adjacentes a poças temporárias (N = 4).  
223 Estes buracos aparentemente não foram construídos por indivíduos de *P. spiniger*, mas  
224 sim por queda de vegetação, drenagem de água pelo solo, ou mesmo movimentação de  
225 terra (arado ou passagem de automóvel). Nestes buracos sempre havia uma pequena  
226 quantidade de água no fundo, mesmo que não houvesse comunicação com a poça de  
227 água temporária adjacente.

228 Em laboratório, pudemos observar que logo após o amplexo o macho pressionou  
229 a fêmea na região axilar com os braços repetidas vezes (três seqüências de dois ou três  
230 apertões). Após o amplexo, pode haver ou não o deslocamento do casal e não pudemos  
231 observar o intervalo de tempo que ocorre entre o amplexo e o início da desova. No

232 processo da desova o macho bateu levemente com a região gular no dorso da cabeça da  
233 fêmea (duas seqüências de dois e três golpes) e arqueou o corpo de forma a posicionar  
234 suas pernas sobre o dorso da fêmea. Em seguida a fêmea inflou levemente o corpo e o  
235 macho posicionou os pés abaixo da cloaca dela (Figura 6). A fêmea contraiu novamente  
236 seu corpo mais fortemente e o macho levantou seus pés atrás de si ou na altura do seu  
237 dorso e bateu as pernas alternadamente num movimento de bateadeira (Figura 7) no  
238 sentido anti-horário. Essa sequencia de movimentos (macho arquear o corpo; posicionar  
239 os pés abaixo da cloaca da fêmea; levantar os pés e girar as pernas em movimento de  
240 bateadeira) se repetiu até que a desova estivesse terminada o que pôde durar até duas  
241 horas (N= 3). O macho realizou em média cerca de seis voltas completas com cada uma  
242 das pernas [6,44 voltas  $\pm$  1,49 (2 – 11; n = 39)]. Aparentemente realizou um número  
243 maior de voltas e teve o movimento curto das pernas quando o ninho de espuma estava  
244 no começo da sua construção e um número menor de voltas e com movimento amplo  
245 das pernas quando o ninho estava parcialmente construído. Após aproximadamente três  
246 segundos de rotação [3,45 s  $\pm$  0,95 (2 – 6,87; n = 21)] o macho repousou suas pernas ou  
247 sobre o ninho de espuma ou dentro dele. Após aproximadamente 13s o processo se  
248 reiniciava [13,01 s  $\pm$  3,06 (9,32 – 20,56; n = 28)].

249 O movimento anterior ao movimento rotatório (no qual o macho posiciona as  
250 pernas no dorso da fêmea, os pés abaixo da cloaca da fêmea e as pernas sobre a desova,  
251 antes do movimento de rotação) durou aproximadamente 2 segundos [1,72 s  $\pm$  0,41  
252 (0,66 – 2,54; n = 21)]. O processo todo, desde posicionar as pernas no dorso da fêmea e  
253 finalizar o movimento rotatório, durou cinco segundos aproximadamente [5,35 s  $\pm$  0,92  
254 (2,91 – 8,59; n =32)]. Após a construção do ninho, o macho soltou-se da fêmea e cada  
255 qual se deslocou para um lado. Em três ocasiões a fêmea permaneceu com a parte  
256 posterior do corpo imerso na desova.

257 O ninho de espuma tem a consistência de clara de ovo batida e não se  
258 desmancha imediatamente quando em formalina 5 %. Os ovos são liberados durante o  
259 processo de construção do ninho de espuma (Figura 7). Os ninhos de espuma sempre  
260 que foram avistados sobre a superfície da água (Figura 5a) estavam ancorados na  
261 vegetação ou na terra. As desovas foram depositadas em buracos não construídos no  
262 solo argiloso (Figura 5b).

263 Foram medidos 136 ovos fecundados proveniente de oito desovas (12, 14, 15,  
264 16, 17, 17, 19 e 26 ovos por desova). O ovo fecundado apresentou diâmetro médio de  
265  $1,56 \pm 0,13$  mm (1,2 – 1,89) e o volume médio de  $2,03 \pm 0,48$  mm<sup>3</sup> (0,9 – 3,55). A  
266 membrana vitelínica estava visível e teve espessura de  $0,35 \pm 0,19$  mm (0,06 - 1,08 mm;  
267  $n = 37$ ; 4 desovas), a cápsula gelatinosa que envolve o ovo é única e apresentou  
268 espessura média de  $0,35 \pm 0,19$  mm (0,06 – 1,08;  $n = 37$ ; 4 desovas).

269 São visíveis a olho nu o pólo animal (escuro) e o pólo vegetativo (claro). O  
270 embrião entre os estágios 19 e 20 (Gosner, 1960) já apresentava movimentos.

271 Em laboratório foi observado que os ovos permaneciam, geralmente, na parte  
272 central do ninho de espuma nos estágios iniciais de desenvolvimento. Após 72 h de  
273 desenvolvimento os ovos estavam concentrados na parte de baixo do ninho de espuma e  
274 já puderam ser observados embriões em movimento dentro dos ovos.

275 As oito fêmeas que desovaram em laboratório, seja por casais formados em  
276 campo ( $N = 4$ ), seja por casais formados em laboratório ( $N = 4$ ), tiveram seus ovários  
277 examinados. As oito fêmeas apresentaram ovócitos em diferentes estágios de  
278 desenvolvimento nos ovários.

279 Não houve correlação entre o sucesso de fecundação e a razão de tamanho entre  
280 machos e fêmeas ( $r_s = -0,04$ ;  $P > 0,05$ ;  $N = 7$ ) e nem com o CRC do macho ( $r_s = 0,035$ ;  
281  $P > 0,05$ ;  $N = 7$ ). Não foi encontrada correlação linear entre o CRC das fêmeas e a

282 quantidade de ovos desovados ( $r_s = 0,16$   $P > 0,05$ ;  $N = 7$ ); nem entre o CRC da fêmea e  
283 os óvulos maduros remanescentes no ovário ( $r_s = 0,22$ ;  $P > 0,05$ ;  $N = 4$ ), nem entre o  
284 CRC da fêmea e a quantidade total de óvulos (óvulos depositados + óvulos maduros  
285 remanescentes no ovário) ( $r_s = 0,31$ ;  $P > 0,05$ ;  $N = 4$ ).

## 286 Sucesso reprodutivo

287 Foram analisadas oito poças temporárias de aproximadamente  $1,85 \text{ m}^2 \pm 1,64$   
288 (0,21 – 5,4) que apresentaram de uma a sete desovas. As desovas foram observadas em  
289 campo em todos os meses entre setembro de 2008 e fevereiro de 2009 (Figura 1).

290 Foram analisadas 30 desovas que continham em média 70 ovos  $\pm 30,46$  (17 –  
291 155). Em dois ninhos de espuma (6,45 %) foram observados predadores (larvas de  
292 Diptera: ver Costa et al. 2009, aceito). Nas duas desovas com presença de predadores  
293 foram observados girinos ainda despigmentados e ovos destruídos. O sucesso de  
294 desenvolvimento destas desovas [= girinos e/ou embriões íntegros / número total de  
295 ovos originários da desova (ovos destruídos, embriões íntegros, girinos íntegros ou  
296 mortos)] foi de 28,81 % e 34,48 %. Estas desovas foram excluídas das demais análises.  
297 Para as demais desovas, o sucesso de fecundação médio foi de 94 % [93,77 %  $\pm$  10,73  
298 (48,68 % a 100 % de óvulos fecundados)].

## 299 Discussão

300 A postura do corpo adotada por *P. spiniger* durante a atividade de vocalização  
301 (parte anterior do corpo fora d'água apoiado sobre as patas traseiras) já havia sido  
302 registrada para *P. centralis* Bokermann, 1962 (Brasileiro, 1998; Brasileiro & Martins,  
303 2006), *P. cicada* Bokermann, 1966 (Bokermann, 1966), *P. cuvieri* (Barreto & Andrade,  
304 1995) e *P. signifer* (Girard, 1853) (Wogel et al., 2002). A vocalização em locais de  
305 pouca profundidade (até 10 cm) já havia sido descrita para *P. albifrons* (Spix, 1824)

306 (Bokermann, 1966), *P. cicada* (Bokermann, 1966), *P. kroyeri* (Reinhardt & Lütken,  
307 1862) (Bokermann, 1966), *P. obtectus* Bokermann, 1966 (Bokermann, 1966) e *P.*  
308 *signifer* (Wogel et al., 2002). *Physalaemus centralis* Bokermann, 1962 (Brasileiro &  
309 Martins, 2006) e *P. rupestris* Caramaschi, Carcerelli & Feio, 1991 (Caramaschi et al.,  
310 1991) já haviam sido registradas vocalizando sobre o solo. Espécies pertencentes a  
311 outros gêneros foram registrados vocalizando sobre o solo e este comportamento foi  
312 relacionado a desovas postas fora da água (Costa et al., 2006, Santos & Amorim, 2005).  
313 Sendo assim, este comportamento de vocalização fora da água (sobre o solo ou abrigado  
314 sob a serapilheira), registrado pela primeira vez para *P. spiniger*, pode estar relacionado  
315 à grande plasticidade em modos reprodutivos apresentada pela espécie. Isto é, alguns  
316 machos podem estar vocalizando próximos às buracos no solo nos quais podem desovar  
317 (presente estudo).

318 O turno de vocalização de *Physalaemus spiniger* difere da de *P. centralis*, que  
319 está correlacionada com o pôr do sol e a temperatura do ar (Brasileiro & Martins, 2006).  
320 Aparentemente, o fator mais importante para a vocalização de *P. spiniger* é a  
321 pluviosidade e a umidade relativa do ar, pois os indivíduos vocalizam mesmo durante o  
322 dia, em dias chuvosos. Diferentemente de *P. centralis* (Brasileiro & Martins, 2006), a  
323 atividade de *P. spiniger* não decresce durante a madrugada, sendo mantida até o Sol  
324 incidir sobre eles. Sendo assim, isto pode sugerir que espécies do mesmo gênero que  
325 habitam diferentes ecossistemas (Cerrado para *P. centralis* e Mata Atlântica para *P.*  
326 *spiniger*) adotem diferentes estratégias reprodutivas.

327 *Physalaemus spiniger* possui reprodução prolongada, caracterizada pela  
328 ausência de comportamentos específicos de espécies de reprodução explosiva (e.g.,  
329 busca ativa por fêmeas e macho deslocador) e pela atividade de vocalização e de desova  
330 que se estende por mais de seis meses. Além disso, a atividade de vocalização, mesmo

331 durante o dia, pode classificá-la como uma espécie oportunista (Crump, 1974),  
332 permanecendo em atividade reprodutiva dependendo das condições ambientais. Neste  
333 caso, as condições ambientais que permitem *P. spiniger* vocalizar durante o dia são: as  
334 temperaturas amenas (a média mensal não ultrapassa 24° C), umidade relativa do ar alta  
335 e a pluviosidade. *Physalaemus spiniger* pode ser considerada também como uma  
336 espécie pioneira, colonizando a poça no início da estação chuvosa (Weber & Silva,  
337 2001) da mesma forma que *P. signifer* (Wogel et al., 2002). Em *P. signifer* poucos dias  
338 de chuva escassa promoveram o acúmulo de água, fato suficiente para desencadear a  
339 atividade reprodutiva da espécie (Wogel et al., 2002). Isto demonstra que o fator  
340 ambiental principal responsável pela atividade reprodutiva da espécie é a chuva ou a  
341 presença de poças (Wogel et al., 2002) e pode indicar que o mesmo fator ambiental (a  
342 chuva ou a presença de poças) seja o responsável pela atividade em *P. spiniger*, como  
343 observado neste estudo, e sugerir que o mesmo ocorra nas demais espécies do grupo.

344 O amplexo de *P. spiniger* é axilarassim como o observado por outros autores  
345 para espécies cogenéricas (Brasileiro & Martins, 2006; Bokermann, 1962). A  
346 observação de casais em amplexo se deslocando também foi observada para *P. cuvieri*  
347 (Bokermann, 1962; Cardoso, 1981) e *P. ephippifer* (Steindachner, 1864) (Hödl, 1990).  
348 Nestes casos os autores afirmam que o local da deposição dos ovos pode ser coincidente  
349 ou não com o sítio de vocalização dos machos (Bokermann, 1962; Cardoso, 1981; Hödl,  
350 1990).

### 351 Seleção sexual

352 A mesma razão de tamanho entre machos e fêmeas, não necessariamente em  
353 amplexo, foi encontrada para outras espécies do grupo *P. signifer* (*P. atlanticus* –  
354 Haddad & Sazima, 2004; *P. angrensis* – Weber et al., 2005; *P. signifer* – Wogel et al.,  
355 2002) e outras espécies do gênero [*P. albifrons* - Bokermann 1966; *P. cicada* -

356 Bokermann 1966; *P. cuvieri* – Barreto & Andrade 1995; *P. erythros* Caramaschi, Feio  
357 & Guimarães-Neto, 2003; *P. fernandezae* (Müller, 1926) – Barrio, 1965; *P. henselii*  
358 (Peters, 1872) – Barrio, 1965; *P. jordanensis* Bokermann, 1967– Bokermann, 1967; *P.*  
359 *kroyeri* (Reinhardt and Lütken, 1862) – Bokermann, 1966; *P. marmoratus* Nascimento  
360 et al., 2006].

361       Alguns autores (Bourne, 1993; Bastos & Haddad, 1996) sugerem, para hilídeos,  
362 que espécies que realizam amplexos axilares e que apresentam machos que variem de  
363 60 a 80 % do tamanho da fêmea possuem mais sucesso na fertilização dos ovos, devido  
364 a justaposição das cloacas no momento da fecundação. Porém, alguns comportamentos  
365 posturais (como arquear o corpo durante o amplexo) podem promover a justaposição  
366 das cloacas, resultando em altas taxas de fecundação dos ovos (Wogel et al., 2005). A  
367 curvatura postural observada em *P. spiniger* possivelmente se deve a necessidade de o  
368 macho recolher o óvulo liberado pela fêmea e misturá-lo à espuma e não a necessidade  
369 de justaposição das cloacas, que já ocorre dada a razão de tamanho entre machos e  
370 fêmeas em amplexo. No caso de *P. spiniger* as fêmeas selecionaram machos maiores,  
371 com tendência a uma razão de tamanho maior, o que pode ter favorecido o alto sucesso  
372 de fecundação na espécie, uma vez que a escolha exercida pela fêmea, em relação ao  
373 CRC do macho, se dá em função de uma melhor justaposição das cloacas durante a  
374 desova, e isso possibilita uma maior taxa de fecundação (Bourne, 1993; Bastos &  
375 Haddad, 1996, 1999).

376 Corte

377       O contato físico entre machos e fêmeas durante a corte, antes do amplexo, foi  
378 descrito para algumas espécies seja da Família Leiuperidae (Ryan, 1985) e outras  
379 famílias (Haddad & Sawaya, 2000; Giaretta & Kokubum, 2004; Kokubum & Souza,  
380 2008; Lucas et al., 2008) e foi observada com maior frequência em espécies de

381 reprodução prolongada (Ryan, 1985; Giaretta & Kokubum, 2004). A sinalização tátil é  
382 comumente observada em espécies em que há a condução da fêmea pelo macho até o  
383 local de desova [*Hylodes heyeri* Haddad, Pombal & Bastos, 1996 – obs. pessoal;  
384 *Aplastodiscus leucopygius* (Cruz & Peixoto, 1985) – Haddad & Sawaya, 2000;  
385 *Leptodactylus furnarius* Sazima & Bokermann, 1978 (Giaretta & Kokubum, 2004);  
386 *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) – Giaretta & Kokubum 2004; Lucas et al., 2008;  
387 *Leptodactylus* sp. (aff. *Hylaedactylus*) – Kokubum & Souza, 2008] e em situações em  
388 que o macho constrói um local de desova antes da chegada da fêmea (Haddad &  
389 Sawaya, 2000; Giaretta & Kokubum, 2004). Tal comportamento de condução de fêmea  
390 e/ou construção do local de desova não parece ser o caso de *P. spiniger* que aparenta  
391 usar buracos previamente formados no ambiente ou ocultar suas desovas sob a  
392 vegetação de gramíneas as margens das poças. No caso de *P. spiniger* a comunicação  
393 tátil parece fazer parte da sinalização de interesse ou aceitação da fêmea ao macho. Da  
394 mesma forma que em *Engystomops pustulosus* (Cope, 1864), em que há a o contato  
395 físico da fêmea no macho cantor antes de ser amplexada por ele (Ryan, 1985).

396 Desova

397 O movimento do macho de bater a perna alternadamente é conhecido para  
398 diversas espécies [*E. pustulosus* (Ryan, 1985); *L. fuscus* (Oliveira-Filho et al. 2005); *P.*  
399 *ephippifer* (Hold, 1990)] e em *P. spiniger*, como na maioria das espécies do gênero, a  
400 deposição dos ovos ocorre durante a formação do ninho. A média do número de ovos  
401 produzidos por *P. spiniger* é menor (70 ovos) do que as demais espécies do gênero  
402 como *P. maculiventris* Lutz, 1925 (129 ovos) (Heyer et al. 1990), *P. signifer* (273 ovos)  
403 (Wogel et al., 2002), *P. cuvieri* (474 ovos) (Barreto & Andrade, 1995), *P. ephippifer*  
404 (415 ovos) (Hödl, 1990), *P. lisei* (539 ovos) (M. Solé – dados não publicados), *P.*  
405 *centralis* (1872 ovos) (Brasileiro & Martins, 2006) e *P. marmoratus* (2465 ovos)

406 (Giaretta & Menin, 2004). Porém, não difere do número médio de ovos encontrado em  
407 *P. atlanticus* (81 ovos), espécie morfológicamente críptica (Haddad & Sazima, 2004).

408 É comum ser observada uma correlação positiva entre o tamanho da fêmea e a  
409 quantidade de ovos produzida em diversas espécies, sejam da família Leiuperidae (e.g.,  
410 *P. centralis* - Brasileiro & Martins 2006; *P. signifer* - Wogel et al., 2002) ou não [e.g.,  
411 *Mannophryne trinitatis* (Garman, 1888) – Pradeiro & Robinson, 1990; *Elachistocleis*  
412 *bicolor* (Guérin-Méneville, 1838) – Rodrigues et al., 2003; *Leptodactylus chaquensis*  
413 Cei, 1950 - Prado et al., 2000; *L. fuscus* (Schneider, 1799) – Martins, 1988; *Rana*  
414 *temporaria* Linnaeus, 1758 – Ryser, 1989]. Com base nesta informação era esperado  
415 que as fêmeas de *P. spiniger* e *P. atlanticus* que são menores que as demais fêmeas [*P.*  
416 *maculiventris* (23,3mm) (Heyer et al. 1990), *P. centralis* (34,7 mm) (Brasileiro &  
417 Martins, 2006), *P. signifer* (27,4 mm) (Wogel et al., 2002), *P. cuvieri* (31,2 mm)  
418 (Barreto & Andrade, 1995), *P. ephippifer* (31,0 mm) (Hödl, 1990), *P. marmoratus* (39,3  
419 mm) (Giaretta & Menin, 2004)] apresentassem menor número de ovos.

420 A ovogênese assincrônica foi registrada para *E. pustulosus* como um padrão de  
421 desenvolvimento de ovócito capaz de maximizar a reprodução (Ryan, 1985) e é um  
422 padrão de ovogênese favorável a reprodução em ambientes imprevisíveis. A ovogênese  
423 assincrônica é um processo capaz de resolver o problema da falta de espaço na cavidade  
424 abdominal de fêmeas para produzir uma quantidade numerosa de óvulos. A ovogênese  
425 em anuros apresenta seis estágios, sendo o estágio seis aquele em que ocorre o acúmulo  
426 de vitelo, e precede a liberação do ovócito para fecundação. A fêmea mantém lotes de  
427 ovócitos no estágio cinco e logo depois que libera um lote de óvulos em estágio seis, um  
428 segundo lote em estágio cinco é maturado (Davidson & Hough, 1969). Desta forma, é  
429 possível otimizar o espaço e ter grande número de ovócitos numa mesma estação  
430 reprodutiva. É sugerida uma vantagem para espécies que usam ambientes temporários

431 para a reprodução, pois nestas situações é vantagem o maior número de ovócitos  
432 disponíveis para desova quando os sítios de reprodução estejam viáveis (Davidson &  
433 Hough, 1969) e pela imprevisibilidade dos ambientes temporários, proles menores  
434 podem aumentar a chance de reprodução efetiva (reprodução dos adultos e  
435 desenvolvimento das larvas até a metamorfose). A presença de ovócitos em diferentes  
436 estágios de maturação no ovário das fêmeas após a desova é um indicativo de que *P.*  
437 *spiniger*, da mesma forma que *E. pustulosus*, possui ovogênese assincrônica (Ryan,  
438 1985).

439         A baixa correlação entre o CRC das fêmeas e o número de ovos da desova,  
440 juntamente com o pequeno número de ovos por desova, a reprodução durante todo o  
441 ano e a presença de fêmeas com óvulos nos ovários durante todo o ano foram apontados  
442 como fatores indicativos de ocorrência de desova múltipla em *Pseudis limellum* (Cope,  
443 1862) (Prado & Uetanabaro, 2000). Em *P. spiniger* não houve correlação entre o CRC  
444 das fêmeas e o número de ovos na desova, e o número de ovos foi maior do que o  
445 esperado em comparação com outras espécies dado o tamanho da fêmea. Mas, a  
446 presença de desovas durante quase toda a estação reprodutiva e a identificação de  
447 ovogênese assincrônica são indícios de que esta espécie seja parte do grupo de espécies  
448 capazes de realizar mais de uma desova por estação reprodutiva (desovas múltiplas).

449         Atualmente são conhecidos três modos reprodutivos para *P. spiniger* (Haddad &  
450 Pombal, 1998). Além destes, observamos uma variação no modo reprodutivo 29 (*sensu*  
451 Haddad & Prado, 2005). Na classificação original, o modo 29 consiste em ninhos de  
452 espuma depositados em painéis no solo, e os girinos exotróficos completam seu  
453 desenvolvimento na poça depois da inundação (Haddad & Prado, 2005). Fazemos aqui  
454 uma breve adaptação a este modo, no sentido de que a “panela” para a deposição da

455 desova pode ser uma depressão no solo. O uso de buracos para desova é pela primeira  
456 vez registrado para o gênero *Physalaemus*.

457 A elevada mortalidade causada pelas larvas de díptera nas desovas pode ser um  
458 forte indicativo da adaptação da espécie a estabelecer este novo modo reprodutivo, uma  
459 vez que ninhos de espuma abrigados em tocas subterrâneas ficam menos sujeitos a  
460 ataques de predadores. Da mesma forma, a estratégia elaborada no modo reprodutivo,  
461 de desova em tocas subterrâneas, foi atribuída em *Aplastodiscus leucopygius* a uma  
462 pressão seletiva dos predadores (Haddad & Sawaya, 2000). A pressão de predação é  
463 uma explicação plausível para evolução de alguns modos reprodutivos na Mata  
464 Atlântica (Haddad & Prado, 2005).

465 É provável que a deposição dos ninhos de espuma na água (modo 11) seja o  
466 modo primitivo desta espécie (visto que ocorre nas demais espécies do gênero e é a  
467 mais comumente observada para esta espécie). A deposição de ninhos de espuma no  
468 solo (modo 28) seria um passo intermediário entre os dois outros modos observados  
469 para a espécie: deposição de ninhos de espuma nas axilas de bromélias terrestres (modo  
470 14) e deposição em buracos no solo (modo 29). Estes dois últimos modos não diferem  
471 muito, já que as axilas de bromélias terrestres e os buracos no solo são semelhantes  
472 quanto ao acesso e morfologia. O modo 29 pode ser um passo intermediário entre o  
473 modo basal da espécie e os demais já observados até o presente momento (Figura 8).

#### 474 Sucesso reprodutivo

475 Sucesso de fecundação semelhante ao de *P. spiniger* foi encontrado para outras  
476 espécies da Mata Atlântica: *P. cuvieri* com mais de 90% de sucesso de fecundação  
477 (Bokermann, 1962), 95 % para *Dendropsophus bipunctatus* (Spix, 1824) (Wogel &  
478 Pombal, 2007), 99,7 % para *Phyllomedusa rohdei* Mertens, 1926 (Wogel et al., 2005) e  
479 86,22 % para *Scinax fuscomarginatus* (Lutz, 1925) (Toledo & Haddad, 2005). Valores

480 baixos no sucesso de fecundação devem indicar estratégias reprodutivas alternativas,  
481 como deposição de óvulos tróficos (e.g., 6.5 % de sucesso observado em *Leptodactylus*  
482 *labyrinthicus* (Spix, 1824) Prado et al., 2005).

#### 483 Conclusões

484 *Physalaemus spiniger* é uma espécie altamente complexa em diversas  
485 características. É a espécie da família com o maior número de modos reprodutivos já  
486 reconhecidos. A presença de quatro modos reprodutivos confere a *Physalaemus*  
487 *spiniger* uma proteção especial contra predadores e uma plasticidade às diferenças de  
488 habitat onde a espécie ocorre. A proteção contra predadores aquáticos é dada pelas  
489 desovas em axilas de bromélias e em locais úmidos no chão da floresta e contra  
490 predadores visualmente orientados é dada pelos ninhos de espuma em buracos no solo.  
491 A plasticidade em relação a fatores ambientais e a imprevisibilidade dos ambientes  
492 temporários é outra vantagem dos quatro modos reprodutivos. A desova em bromélias e  
493 em buracos no solo fornece uma proteção maior dos embriões contra a dessecação.

494 A complexidade de *P. spiniger* não se dá somente nos modos reprodutivos  
495 diferenciados, mas também quanto ao comportamento de corte que envolve além da  
496 comunicação sonora a comunicação tátil. Certamente é a espécie da família  
497 Leiuperidae com maior complexidade e reprodutiva conhecida.

498 Todas essas características (variedade de modos reprodutivos e comportamento  
499 de corte complexo) juntamente com a alta taxa de fecundação dos ovos e a capacidade  
500 de realizar desovas múltiplas, que permite a fêmea desovar com mais de um macho em  
501 uma mesma estação reprodutiva e em diferentes momentos (o que garante proteção a  
502 fatores ambientais) fornece à espécie uma grande adaptação ao ambiente e um grande  
503 sucesso reprodutivo. Toda a complexidade reprodutiva da espécie pode facilitar sua

504 adaptação a mudanças ambientais, flutuação nas populações de predadores e  
505 conseqüentemente redução do número de machos, possivelmente tornando a espécie  
506 mais resistente que outras filogeneticamente próximas e até mesmo dentre as espécies  
507 do microhábitat que ocupa.

508

#### 509 **Agradecimentos**

510 Agradecemos a Cynthia P. A. Prado e Célio F. B. Haddad pelas valiosas  
511 contribuições no manuscrito. A Capes e a Fapesp (proc. no. 2008/50325-5 e  
512 2008/52847-9) pelo auxílio e pelas bolsas de estudos. A FBPn pelo apoio logístico. Ao  
513 ICMBio pela licença de coleta (licença n° 16461-1, código de autenticação 24171151).

#### 514 Referências

- 515 Ab'Saber, A. N. 1977. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. Primeira  
516 aproximação. *Geomorfologia* 52:1-23.
- 517 Abramoff, M. D., Magelhaes, P. J., and S. J. Ram 2004. "Image rocessing with imageJ".  
518 *Biophotonics International* 11(7):36-42.
- 519 Altmann, J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods.  
520 *Behaviour* 15:227-267.
- 521 Barreto L., and G. V. Andrade 1995. Aspects of the reproductive biology of  
522 *Physalaemus cuvieri* (Anura: Leptodactylidae) in northeastern Brazil. *Amphibia-*  
523 *Reptilia* 16:67-76.
- 524 Barrio, A. 1965. El género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina.  
525 *Physis* 25:421-448.

- 526 Bastos R. P., and C. F. B. Haddad 1996. Breeding activity of the Neotropical treefrog  
527 *Hyla elegans* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* 30:355–360.
- 528 Bastos, R. P., and C. F. B. Haddad 1999. Atividade reprodutiva de *Scinax rizibilis*  
529 (Bokermann) (Anura, Hylidae) na Floresta Atlântica, sudeste do Brasil. *Revista*  
530 *Brasileira de Zoologia* 16(2):409-421.
- 531 Bokermann W. C. A. 1967. Três novas espécie de "*Physalaemus*" do sudeste Brasileiro.  
532 *Revista Brasileira de Biologia* 27(2):135-143.
- 533 Bokermann, W. C. 1962. Observações Biológicas sobre "*Physalaemus cuvieri*"  
534 Fitz, 1826 (Amphibia, Salientia). *Revista Brasileira de Biologia* 22(4):391-339.
- 535 Bokermann, W. C. A. 1966. "Notas Sobre três espécies de "*Physalaemus*" de Maracás,  
536 Bahia (Amphibia, Leptodactylidae)." *Revista Brasileira de Biologia* 26(3):253-  
537 259.
- 538 Bourne, G. R. 1993. Proximate costs and benefits of mate acquisition at leks of the frog  
539 *Ololygon rubra*. *Animal Behaviour* 45:1051–1059.
- 540 Brasileiro, C. A. 1998. *Physalaemus centralis* (NCN). Male-male combat.  
541 *Herpetological Review* 29(3):165.
- 542 Brasileiro, C. A., and M. Martins 2006. Breeding biology of *Physalaemus centralis*  
543 Bokermann, 1962 (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil. *Journal of*  
544 *Natural History* 40(17–18):1199–1209.
- 545 Caramaschi U., Carcerelli L. C., and R. Feio 1991 A new species of *Physalaemus*  
546 (Anura: Leptodactylidae) from Minas Gerais, Southeastern Brazil. *Herpetologica*  
547 47(2):148-151.

- 548 Caramaschi, U., Feio, R.N., Guimarães-Neto A.S. 2003 A New, Brightly colored  
549 species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae) from Minas Gerais,  
550 Southeastern Brazil. *Herpetologica* 59(4):519-524. Available at:  
551 <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1655/02-102>.
- 552 Cardoso, A. J. 1981. Biologia e sobrevivência de *Physalaemus cuvieri* (Fitz.) 1826  
553 (Amphibia, Anura) na natureza. *Ciência e Cultura*. 33:1224-1228.
- 554 Costa, R. C. Facure, K. G., and A. A. Giaretta 2006. Vocalização e descrição do girino  
555 de *Epipedobates flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) no sul de Goiás. *Biota*  
556 *Neotropica* 6(1)  
557 <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?article+bn00506012006> .  
558 ISSN 1676-061 .
- 559 Costa, T. R. N., Silva, N. R. and L. F. Toledo 2009. *Physalaemus spiniger* (Iguape  
560 Dwarf Frog) eggs and adult predation. *Herpetological Review*, aceito. (ver anexo  
561 da dissertação).
- 562 Crump, M. L. 1974. Reproductive strategies in a tropical anuran community.  
563 *Miscellaneous Publication of the Museum of Natural History* 61:1-68.
- 564 Cruz, A. G. C., Nascimento, L. B., and R. N. Feio 2007. A new specie of the genus  
565 *Physalaemus* Fitzinger 1826 (Anura: Leuiperidae) from southeastern Brasil.  
566 *Amphibia-Reptilia* 28:457-465.
- 567 Davidson, E. H., and B. R. Hough 1969. Synchronous oogenesis in *Engystomops*  
568 *pustulosus*, a Neotropic anuran suitable for laboratory studies: Localization in  
569 the embryo of RNA synthesized at the lampbrush stage. *Journal of Experimental*  
570 *Zoology* 172: 25-48.

- 571 FBPN 2001. Fundação O Boticário de Proteção da Natureza. Reserva Natural Salto  
572 Morato - Plano de Manejo. Versão preliminar. São José dos Pinhais.
- 573 Giaretta, A. A. and M. N. C. Kokubum 2004. Reproductive ecology of *Leptodactylus*  
574 *furnarius* Sazima & Bokermann, 1978, a frog that lay eggs in underground  
575 chambers (Anura, Leptodactylidae). *Herpetozoa* 16:115-126.
- 576 Giaretta, A. A., and M. Menin 2004. Reproduction, phenology and mortality sources of  
577 a species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Natural History*  
578 38:1711–1722.
- 579 Grant, T., Frost, D. R., Caldwell, J. P., Gagliardo, R., Haddad, C. F. B., Kok, P. J. R.,  
580 Means, B. D., Noonan, B. P., Schargel, W., and W. C. Wheeler 2006.  
581 Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Anura:  
582 Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural*  
583 *History* 299:184-203.
- 584 Haddad, C. F. B., & R. J. Sawaya 2000. Reproductive modes of Atlantic Forest hyloid  
585 frogs: A general overview and the description of a new mode. *Biotropica*  
586 32(4b):862–871.
- 587 Haddad, C. F. B., and C. P. A. Prado 2005. Reproductive modes in frogs and their  
588 unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *BioScience* 55(3):207-217.
- 589 Haddad, C. F. B., and I. Sazima 2004. A new species of *Physalaemus* (Amphibia;  
590 Leptodactylidae) from the Atlantic forest in southeastern Brazil. *Zootaxa* 479:1–  
591 12.

- 592 Haddad, C. F. B., and J. P. Pombal Jr 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger*  
593 (Anura: Leptodactylidae) and description of two new reproductive modes.  
594 Journal of Herpetology 32(4):557-565.
- 595 Hammer, Ø. Harper, D. A. T. and P. D. Ryan 2001. PAST v., 1.9: Paleontological  
596 statistics software package for education and analysis. Paleontologia Electronica  
597 4(1):9.
- 598 Heyer, W. R.; Rand, A. S., Cruz C. A. G. Peixoto O. L., and C. E. Nelson 1990. Frogs  
599 of Boraceia. Arquivos de Zoologia 31:231-410.
- 600 Hödl W. 1990 An analysis of foam nest construction in the Neotropical frog  
601 *Physalaemus ehippifer* (Leptodactylidae). Copeia 1990:547–554.
- 602 Kokubum, M. N. C. and M. B. Souza 2008. Reproductive ecology of *Leptodactylus* aff  
603 *hylaedactylus* (Anura, Leptodactylidae) from an open area in Northern Brazil.  
604 South American Journal of Herpetology 3:15–21.
- 605 Köppen, W. 1900. Versuch einer Klassifikation der Klimate vorsugsweise nach ihren  
606 Beziehungen zur Pflanzenwelt. Geograph. Zeirsehr 6: 593- 611, 657-679.
- 607 Lehner, P. N. 1979. Handbook of ethological methods. Garland STPM Press, New  
608 York. 403p.
- 609 Lucas, E. M., Brasileiro, C. A., Oyamaguchia, H. M., & M. Martins 2008. The  
610 reproductive ecology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae): new  
611 data from natural temporary ponds in the Brazilian Cerrado and a review  
612 throughout its distribution. Journal of Natural History 42(35–36):2305–2320.

- 613 Magnusson, W. E. & J. M. Hero 1991 . Predation and the evolution of complex  
614 oviposition behavior in Amazon rainforest frogs. *Oecologia* 86:310-318.
- 615 Martin, P., and P. Bateson 1986. *Measuring behavior: an introductory guide*. Cambridge  
616 Univ. Press. 199p.
- 617 Martins, M. 1998. Biologia reprodutiva de *Leptodactylus fuscus* em Boa Vista, Roraima  
618 (Amphibia: Anura). *Revista Brasileira de Biologia* 48(4):969-977.
- 619 Nascimento L. B., Pimenta B. V., Cruz C. A., and U. Caramaschi 2006 Taxonomic  
620 status of *Gomphobates marmoratus* Reinhardt and Lutken 1862 "1861" and  
621 *Eupemphix fuscomaculatus* Steidachner 1864 (Amphibia, Anura,  
622 Leptodactylidae). *South American Journal of Herpetology* 1(3):166-174.
- 623 Nascimento, L. B., Caramaschi, U., and C. A. G. Cruz 2005. Taxonomic review of the  
624 species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with the revalidation  
625 of the genera *Engystomops* Jiménez-De La-Espada, 1872 and *Eupemphix*  
626 Steindachner, 1863 (Amphibia Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu*  
627 *Nacional* 63(2): 297-320.
- 628 Nascimento, L. B., Carvalho, R. R.; Wogel, H.; Fernandes, D. S., and R. N. Feio 2001.  
629 Reprodução e descrição do girino de *Physalaemus rupestris* Caramaschi,  
630 Carcerelli and Feio, 1991 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Boletim do*  
631 *Museu Nacional* 450:1-10.
- 632 Oliveira Filho J. C.; Costa, H. C. de M. and U. M. L. Braga 2005. Egg-laying and foam-  
633 beating in *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae). *Biota Neotropica*  
634 5(2):319-320.

- 635 Pimenta, B. V. S., Cruz, C. A. G., and D. L. Silvano 2005. A new species of the genus  
636 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain  
637 Forest of southern Bahia, Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26 :201-210.
- 638 Pradeiro, M. J., and M. D. Robinson 1990. Reproduction in the toad *Colostethus*  
639 *trinitatus* (Anura: Dendrobatidae) in a northern Venezuela seasonal  
640 environment. *Journal of Tropical Ecology* 6:333-341.
- 641 Prado C. P., Uetanabaro, M., and F. S. Lopes 2000. Reproductive strategies of  
642 *Leptodactylus chaquensis* and *L. podipicinus* in the Pantanal Brazil. *Journal of*  
643 *Herpetology* 34(1):135-139.
- 644 Prado, C. P. A., and M. Uetanabaro 2000. Reproductive biology of *Lysapsus limellus*  
645 Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) in the Pantanal, Brazil. *Zoocriadeiros* 3(1):25-  
646 30.
- 647 Prado, C. P., Toledo, L. F., Zina J., and C. F. B. Haddad 2005. Trophic eggs in the foam  
648 nests of *Leptodactylus labyrinthicus* (anura, leptodactylidae): an experimental  
649 approach. *Herpetological Journal* 15:279-284.
- 650 Rodrigues, D. J., Lopes, F. S., and M. Uetanabaro 2003. Padrão reprodutivo de  
651 *Elachistocleis bicolor* (Anura, Microhylidae) na Serra da Bodoquena, Mato  
652 Grosso do Sul, Brasil. *Iheringia* 93(4):365-371.
- 653 Ryan, M.J. 1985. *The Túngara frog: A Study in a Sexual Selection and Communication.*  
654 The University of Chicago Press, Chicago 51p.
- 655 Ryser, J. 1989. Weight loss, reproductive output, and the cost of reproduction in the  
656 common frog, *Rana temporaria*. *Oecologia* 78: 264–268.

- 657 Santos E. M., and F. O. Amorim 2005. Modo reprodutivo de *Leptodactylus natalensis*  
658 Lutz, 1930 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Revista Brasileira de  
659 Zoociências 7(15): 39-4.
- 660 Silva, A. P. Z., Baldissera Jr., F. A., Haddad, C. F. B., and S. Kasahara 2000.  
661 Karyotypes and nucleolus organizer regions in four species of genus  
662 *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae). Iheringia 88:159-164.
- 663 Toledo, L. F., and C. F. B. Haddad 2005 Reproductive biology of *Scinax*  
664 *fuscumarginatus* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. Journal of  
665 Herpetology 39:3029-3037.
- 666 Weber, L. N., and S. P. Carvalho e Silva 2001. Descrição da larva de *Physalaemus*  
667 *signifer* (Girard, 1853) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) e informações sobre  
668 a reprodução e a distribuição geográfica da espécie. Boletim do Museu Nacional  
669 462:1-6.
- 670 Weber, L. N., Gonzaga, L. P., and S. P. Carvalho e Silva 2005. A New species of  
671 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland Atlantic forest of Rio de Janeiro  
672 state, Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Arquivos do Museu Nacional  
673 63(4):677-684.
- 674 Wells, K. D. 1976. Multiple Egg Clutches in the green frog (*Rana clamitans*).  
675 Herpetologica 32(1) 85-87.
- 676 Wells, K. D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. Animal Behaviour  
677 25:666-693.

- 678 Wogel, H., Abrunhosa, P. A., and J. P. Pombal Jr. 2002. Atividade reprodutiva de  
679 *Physalaemus signifer* (Anura, Leptodactylidae) em ambiente temporário.  
680 *Iheringia* 92(2):57-70.
- 681 Wogel, H., Abrunhosa, P., and J. P. Pombal Jr. 2005. Breeding behaviour and mating  
682 success of *Phyllomedusa rohdei* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil.  
683 *Journal of Natural History* 39(22):2035-2045.
- 684 Wogel, H., and J. P. Pombal Jr. 2007. Comportamento reprodutivo e seleção sexual em  
685 *Dendropsophus bipunctatus* (Spix, 1824)(Anura, Hylidae). *Papéis Avulsos de*  
686 *Zoologia* 47(13):165-174.

687 Tabela 1 – Comprimento rostro-cloacal (mm) de machos e fêmeas de espécies de *Physalaemus*, o grupo a qual pertencem, a quantidade de  
 688 ovos, a razão de tamanho (macho/fêmea) e fonte.

Espécie	Grupo	macho (mm)	fêmea (mm)	número de ovos	razão		Fonte
					macho/fêmea		
<i>P. albifrons</i>	<i>P. albifrons</i>	32	34	--	0,9		Bokermann 1966
<i>P. angrensis</i>	<i>P. signifer</i>	17,59	19,73	--	0,9		Weber et al. 2005
<i>P. atlanticus</i>	<i>P. signifer</i>	21,1	22,4	81	0,9		Hadda & Sazima 2004
<i>P. centralis</i>	<i>P. cuvieri</i>	36,3	34,5	1872	1,1		Brasileiro & Martins 2006
<i>P. cicada</i>	<i>P. cuvieri</i>	26,75	28,25	--	0,9		Bokermann 1966
<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	--	31,2	474	--		Barreto & Andrade 1995
<i>P. ephippifer</i>	<i>P. cuvieri</i>	--	31	415	--		Hödl 1990
<i>P. erikae</i>	<i>P. cuvieri</i>	23,7	23,1	--	1,0		Cruz & Pimenta 2004
<i>P. erythros</i>	<i>P. deimaticus</i>	23,2	26,4	--	0,9		Caramashi et al. 2003
<i>P. fuscomaculatus</i>	<i>P. albifrons</i>	--	39,3	2465	--		Giaretta & Menin 2004
<i>P. irroratus</i>	<i>P. signifer</i>	21,7	22,7	--	1,0		Cruz et al. 2007
<i>P. jordanensis</i>	<i>P. gracilis</i>	24	27	--	0,9		Bokermann 1967
<i>P. kroyeri</i>	<i>P. cuvieri</i>	29,5	32	--	0,9		Bokermann 1966
<i>P. signifer</i>	<i>P. signifer</i>	25,01	27,4	273	0,9		Wogel et al 2002
<i>P. spiniger</i>	<i>P. signifer</i>	18,8	21,1	76,89	0,9		Haddad & Pombal 1998
<i>P. spiniger</i>	<i>P. signifer</i>	18,3	19,58	70	0,9		Presente estudo

689

### Legenda das figuras

Figura 1 – Dados de precipitação média mensal (barras cinza claro), temperatura média mensal (barra cinza escuro) e umidade relativa do ar média mensal (círculos negros), na região de Guaraqueçaba, Paraná, entre os meses de janeiro de 2008 e julho de 2009. A presença de machos em atividade vocal está representada por um desenho de um sapo () e a presença de desovas por um desenho de um girino ()

Figura 2 – Macho adulto de *Physalaemus spiniger* vocalizando com parte do corpo fora da água quando exposto (A) e abrigado sob folhas (B).

Figura 3 – Casal de *Physalaemus spiniger* em amplexo axilar.

Figura 4 – Esquema representando a corte em *Physalaemus spiniger*. A – a fêmea se aproxima do macho; B – a fêmea toca o macho com a mão em seu dorso; C – a fêmea se desloca para longe do macho; D – a fêmea se desloca em direção ao macho e coloca sua pata traseira sobre o macho; E a fêmea se desloca para a frente do macho; F – a fêmea caminha de costas em direção ao macho; G – o macho agarra a fêmea pelo abdome; H – o macho segura a fêmea em amplexo axilar.

Figura 5 - Visão ventral de um casal de *Physalaemus spiniger* em amplexo. As setas indicam os pés do macho em contato com a cloaca da fêmea, durante o processo de construção do ninho e desova.

Figura 6 – Casal de *Physalaemus spiniger* em amplexo. A seta indica um óvulo liberado, indicando que sua liberação ocorre ao longo da construção do ninho.

Figura 7 – Desova de *Physalaemus spiniger* em tocas no solo (A) e na água (B). As setas destacam casais realizando as posturas.

Figura 8. Fluxograma representando os possíveis passos evolutivos para diversificação dos modos reprodutivos de *Physalaemus spiniger*, sendo o modo 11 mais basal (primitivo e sinapomorfia do gênero), o modos 14 mais derivados e os modos 28 e 29 um intermediário entre o modo primitivo e o mais derivado.

Figura 1

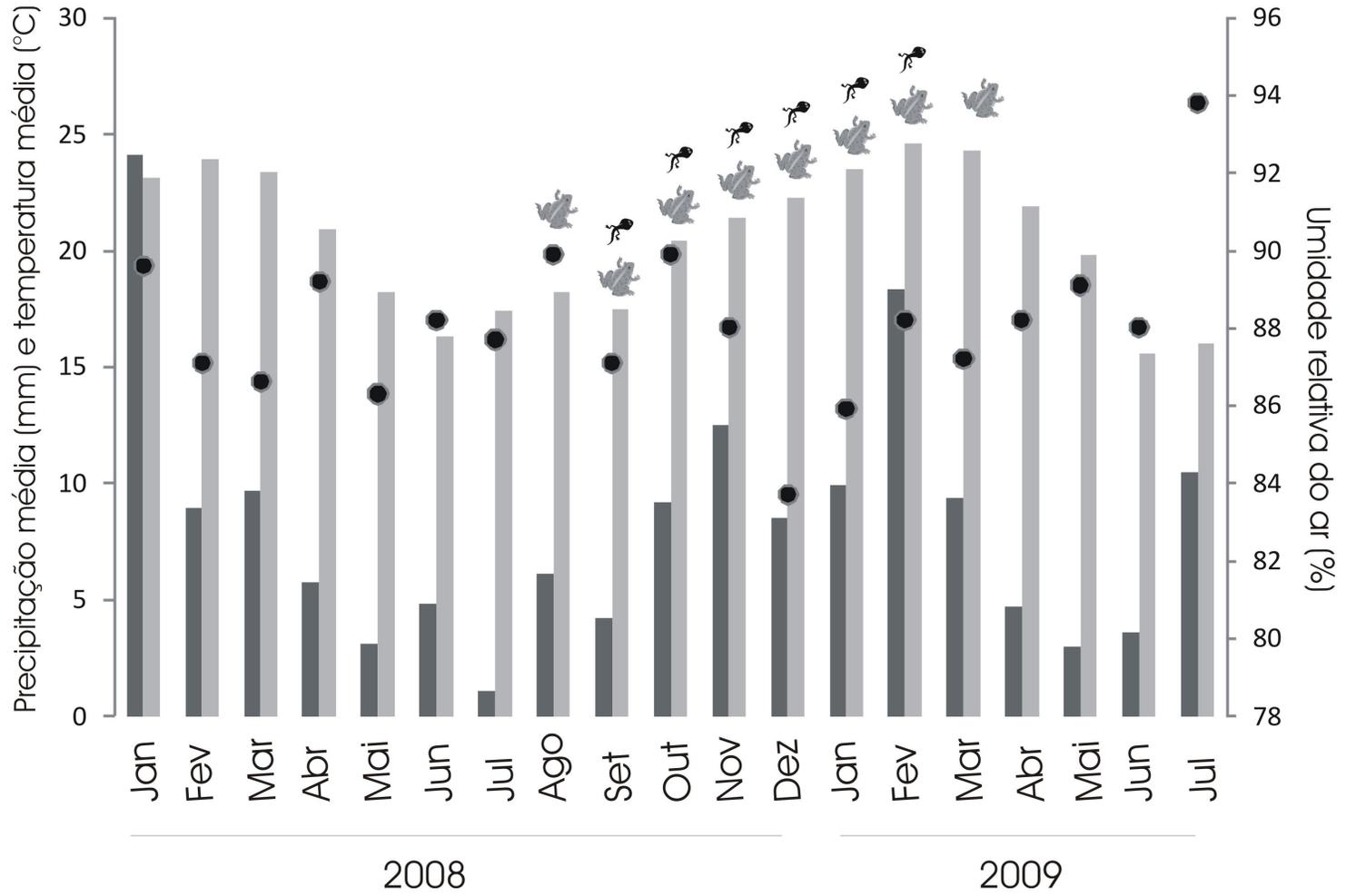


Figura 2.



**Figura 3.**

Figura 4

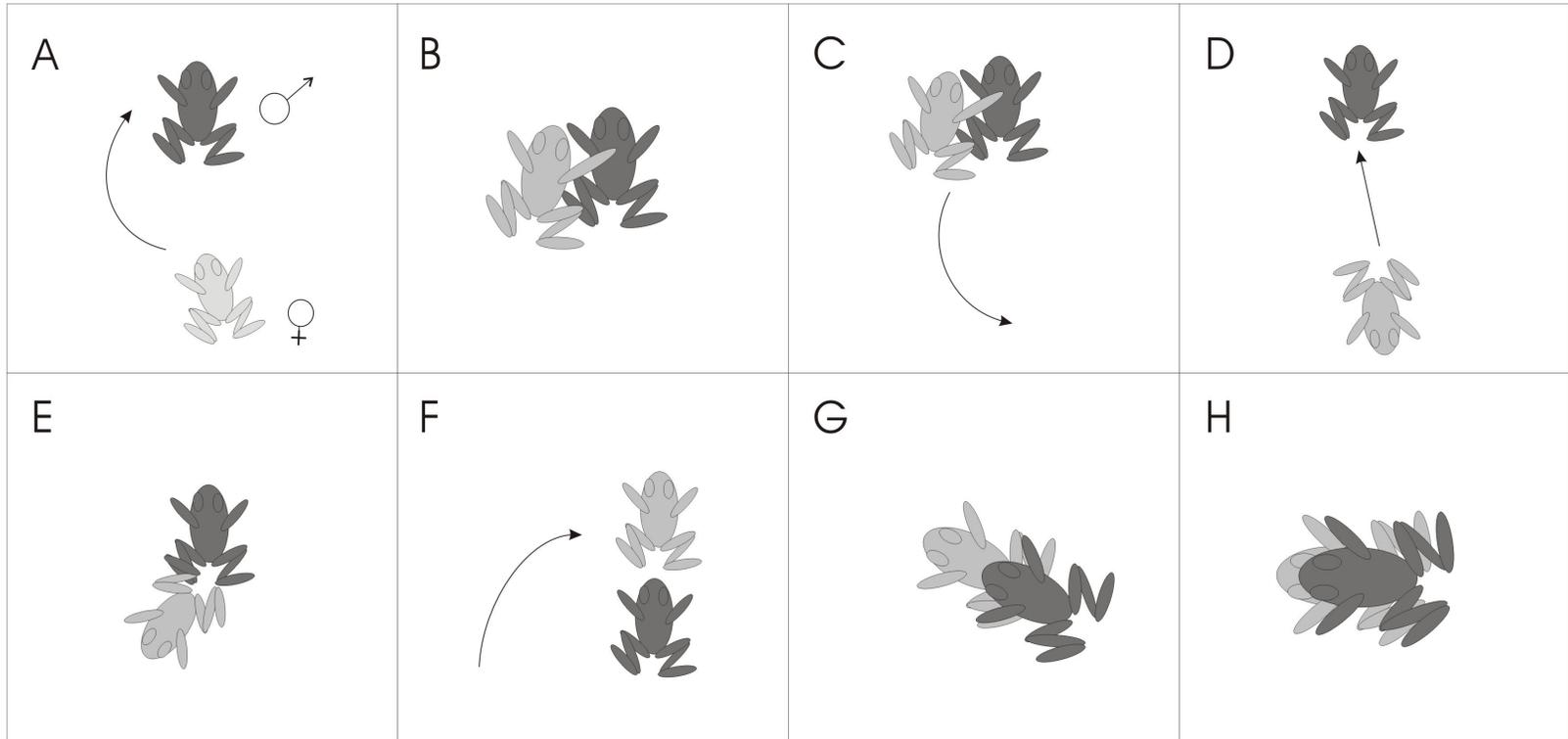


Figura 5



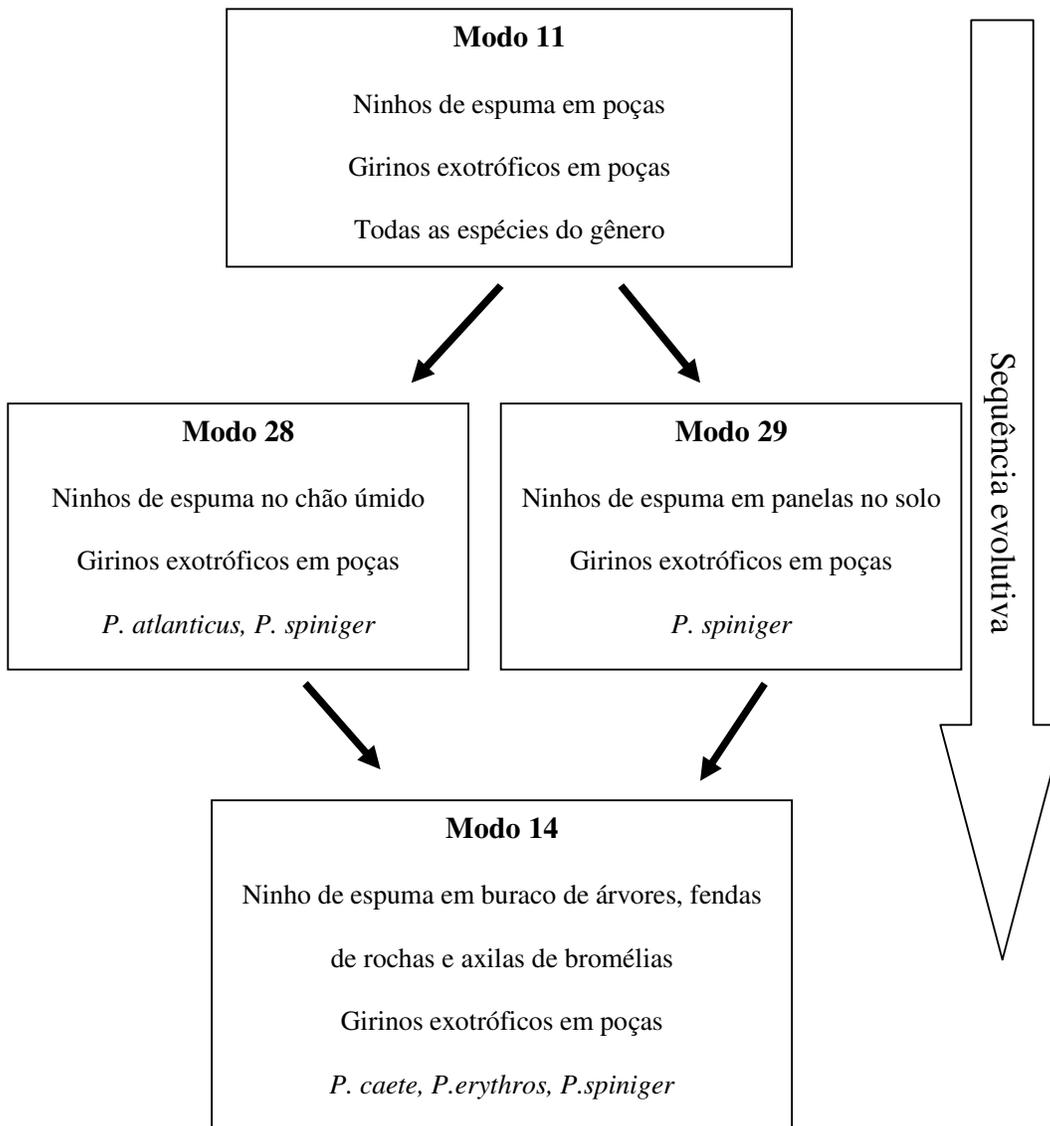
Figura 6



Figura 7



Figura 8



Author Addresses:

<sup>1</sup>*Programa de pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas, Caixa Postal 19031, CEP 81531-980, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: thaisreginacosta@gmail.com*

<sup>2</sup>*Present address: Museu de Zoologia “Prof. Adão José Cardoso”, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP- IB), Rua Albert Einstein s/n, Campinas, São Paulo, CEP13083-863 E-mail: toledolf2@yahoo.com*

<sup>3</sup>Corresponding author: Thais R. N. Costa: thaisreginacosta@gmail.com

## Conclusões gerais

*Physalaemus spiniger* apresenta distribuição não muito extensa, porém suas populações são diferentes entre si quanto à morfologia externa. As características morfológicas variam conforme o gradiente latitudinal e esta variação não está relacionada nem à distância geográfica nem às características ambientais. As maiores diferenças foram observadas na morfologia da cabeça das populações e sugerimos que a ecologia alimentar possa ser um fator que está promovendo a variação morfológica.

*Physalaemus spiniger* possui comportamentos complexos e uma ampla variedade na emissão de cantos. Destaca-se tanto dentro do grupo de espécies, quanto do gênero, da família ou mesmo dentro da ordem Anura. Possui pelo menos cinco cantos distintos (anúncio, territorial, briga, soltura e corte), sendo a espécie de *Physalaemus* com maior repertório conhecido até o momento. Ademais, foram reconhecidas até 22 variações do canto de anúncio, fato inédito para toda a família.

O estímulo ambiental que regula a atividade vocal e de reprodução é a chuva e a presença de poças e a espécie pode vocalizar mesmo durante o dia, apesar de apresentar hábito predominantemente noturno.

A espécie coloniza as áreas no começo da estação das chuvas e as fêmeas apresentam ovogênese assincrônica, que as permite realizar mais de uma desova durante a estação reprodutiva, com mais de um macho e em mais de um local, como uma forma de garantir a reprodução em ambientes imprevisíveis.

Apresenta plasticidade ainda quanto aos modos reprodutivos, sendo a espécie com mais modos reprodutivos na família Leiuperidae (quatro modos). O sistema de corte é complexo, com atividades acústicas e táteis. O sucesso de fecundação dos ovos é sempre alto. Estas características podem fornecer a espécie uma grande adaptação ao

ambiente e um grande sucesso reprodutivo. Toda a plasticidade reprodutiva da espécie pode facilitar sua adaptação a mudanças ambientais.

## Anexo 1

### ***PHYSALAEMUS SPINIGER* (Iguape Dwarf Frog) EGGS AND ADULT**

**PREDATION.** Anurans are known to be preyed upon in the phases of eggs, tadpoles, and/or post-metamorphic frogs (Toledo et al 2007 Anurans as prey: an exploratory analysis and size relationships between predators and their prey. *Journal of Zoology*, 271: 170-177). Anurans could be preyed upon by vertebrates, invertebrates, or even carnivorous plants (Toledo et al 2007, *op. cit.*). We here report predation upon eggs in the foam nest of *Physalaemus spiniger* by maggots of dipterans and an adult male of *P. spiniger* being preyed upon by Theraphosidae spider. *Physalaemus spiniger* is a small size frog (mean SVL in males of 18.8 mm and 21.1 mm in females) (Haddad and Pombal Jr., 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger* (Anura: Leptodactylidae) and description of two new reproductive modes. *Journal of Herpetology* 32(4): 557-565) and call on the floor, near temporary ponds. The eggs are laid in a foam nests that is deposited on the water surface on the edges of ponds, on the humid leaf litter near the ponds, or on the axils of terrestrial bromeliads (Haddad e Pombal 2008, *op.cit.*).

*Physalaemus spiniger* is known from the states of Paraná (Guaraqueçaba) and São Paulo (Ilha do Cardoso, Cananéia, Estação Ecológica da Juréia, Iguape, Caverna do Diabo, Iporanga, Jacupiranga), Southern and Southeast Brazil (Haddad e Pombal 2008, *op.cit.*). The risk of predation by invertebrates is greater during the breeding season (Toledo, 2005. Predation of juvenile and adult anurans by invertebrates: current knowledge and perspectives. *Herpetological Review*, 36(4): 395-400) and spiders are the most important invertebrate predator of post-metamorphic anurans (Toledo et al., 2007, *op. cit.*). Maggots of dipterans are common predators of eggs and embryos

(Menin and Giaretta (2003). Predation on foam nests of leptodactyline frogs (Anura: Leptodactylidae) by larvae of *Beckeriella niger* (Diptera: Ephydriidae). *Journal of Zoology*, **261**, pp 239-243). Predation by invertebrates upon *Physalaemus* spp. have already been published (Brasileiro et al. 2003. *Physalaemus cuvieri* (Barker Frog) Predation. *Herpetological Review*. 34(2):137; Toledo 2003 *op. cit.*; Toledo 2005 *op. cit.*) and even there is already on the report of a Lycosidae spider predation upon *Physalemus spiniger* (Toledo et al. 2007, *op. cit.*). On 27 October 2008 we found a foam nest with dipterans maggots that were feeding on the eggs. In the following night we observed an adult male *Physalaemus spiniger* (SVL = 18.5 mm) being preyed upon by a juvenile Theraphosidae spider (TL = 19.5 mm). The *P. spiniger* male was calling on the floor in the edges of a temporary pond when it was captured by the spider on its left leg at Reserva Natural Salto Morato, Guaraqueçaba, Paraná, Southern Brazil (25.186643°S, 48.254730°W). Both individuals were captured and deposited in the Museu de Zoologia “Prof. Dr. Adão José Cardoso”, at Unicamp, Campinas, Brazil (ZUEC 14578). After collecting the animals, the spider left the anuran that was already paralyzed and died three hours after the observation with its left leg partially digested (Fig 1). The size relationship observed in this predation event is consistent to the relation presented by Toledo et al (2007, *op. cit.*) where solitary, poisonous, and invertebrate predators generally eats preys of their own size, or preys that are a little shorter than its size.

We acknowledge FAPESP and CAPES for grants and scholarships.

Submitted by **THAIS REGINA NORONHA COSTA**, Programa de pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas, Caixa Postal 19031, CEP 81531-980, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: thaisreginacosta@gmail.com, **NELSON ROGRIGUES DA SILVA**, Museu de Zoologia “prof. Dr. Adão José Cardoso”, Universidade Estadual de Campinas

(UNICAMP- IB), Rua Albert Einstein s/n, Campinas, São Paulo, CEP13083-863 E-mail: nelsonrodrigues2701@yahoo.com.br, and **LUÍS FELIPE TOLEDO**, current address: Museu de Zoologia “prof. Dr. Adão José Cardoso”, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP- IB), Rua Albert Einstein s/n, Campinas, São Paulo, CEP13083-863; and Programa de pós-graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas, Caixa Postal 19031, CEP 81531-980, Curitiba, Paraná, Brasil. Email: toledolf2@yahoo.com.

Fig. 1 – *Physalaemus spiniger* preyed by a Theraphosidae spider. The partially digested left leg is indicated by an arrow.



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)