

THIAGO BURDA MAYER

**Caracterização do processo reprodutivo e alimentar do
anfíbio *Dendropsophus minutus***

**CURITIBA
2014**

THIAGO BURDA MAYER

**Caracterização do processo reprodutivo e alimentar do
anfíbio *Dendropsophus minutus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Luís Fernando Fávoro

**CURITIBA
2014**



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação Zoologia



TERMO DE APROVAÇÃO

Thiago Burda Mayer

“Caracterização do processo reprodutivo e alimentar do anfíbio *Dendropsophus minutus*”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zoologia, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Comissão Examinadora:

Professor Dr. Luis Fernando Fávaro
Orientador

Professora Dra. Elaine Maria Lucas Gonsales
Membro Externo

Professor Dr. Carlos Eduardo Conte
Membro Interno

Curitiba, 24 de Fevereiro de 2014.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Zoologia/UFPR
Setor de Ciências Biológicas - Departamento de Zoologia
Caixa Postal 19020 - CEP 81531-980 - Curitiba - Paraná
Telefone/FAX +55 (041) 3361-1641**

É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Luís Fernando Fávaro, que contribuiu com conhecimento e incentivo durante toda a realização deste trabalho, e acreditou em meu potencial desde os primeiros contatos quando eu ainda estava na graduação.

Ao programa de Pós-Graduação em Zoologia da UFPR pelo apoio intelectual e estrutural, que contribuiu para a edificação, teórico-prático, dos conhecimentos em Zoologia.

Ao CNPq pela concessão da bolsa durante o período de estudo.

Ao Prof. Dr. Mauricio Moura pela amizade, incentivo e ajuda em todas as etapas do meu percurso acadêmico.

À Prof^a. Dra. Maria Eliza Tomotake, pela amizade, ajuda, conselhos e oportunidade de ingressar e evoluir na área da pesquisa.

Ao Msc Peterson Leivas, pela amizade, ajuda nas coletas, análises e desenvolvimento de todo este trabalho.

Ao Dr. Fernando Leivas pelo auxílio na realização do trabalho de alimentação.

Ao amigo Jefferson Martins, pelo tempo de convivência, amizade, ajuda com as lâminas e as longas horas de conversa sobre games e a tão temida dissertação.

Agradeço aos amigos de laboratório Wanessa, Vinicius, Diego, Bianca e Anderson pelas conversas, churrascos, cafés, troca de experiências e favores.

Agradeço em especial à minha família, minha vó Nezinha, minha mãe Sandra, meu pai Renato, minha irmã Raissa e meu tio Niwa, por todo o incentivo e ajuda, no ingresso e durante o mestrado. Sem vocês, nada disso seria possível.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO GERAL.....	ix
GENERAL ABSTRACT.....	x
PREFÁCIO.....	xi
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	xiii
CAPÍTULO I – BIOLOGIA REPRODUTIVA DE <i>Dendropsophus minutus</i> (Amphibia: Anura).....	xvii
RESUMO.....	01
ABSTRACT.....	02
INTRODUÇÃO.....	03
MATERIAL E MÉTODOS.....	04
RESULTADOS.....	06
DISCUSSÃO.....	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16
CAPÍTULO II – BIOLOGIA ALIMENTAR DE <i>Dendropsophus minutus</i> (Amphibia: Anura).....	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
INTRODUÇÃO.....	23
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS.....	26
DISCUSSÃO.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Cortes histológicos de testículos e ovário de *Dendropsophus minutus*. A- Testículo Imaturo (A) com predomínio de espermatogônias (SG); B- Testículo em Maturação inicial (B1) com predomínio de espermatócitos (SC); C e D- Testículos em Maturação Avançada (B2), demonstrando espermatogônias (SG), espermatócitos (SC), espermátides (ST) e espermatozóides (SZ); E- Testículo Maduro (C) com predomínio de espermatozóides (SZ); F- Ovário Maduro (C) com folículos ovarianos maduros, repletos de grânulos de vitelo. Coloração HE.....08
- Figura 2.** Valores de IGS individuais (A) e valores de IGS médios mensais (B) para machos de *Dendropsophus minutus*.....09
- Figura 3.** Distribuição mensal da freqüência percentual dos estágios de desenvolvimento testicular de *Dendropsophus minutus*. A (imaturo), B1 (maturação inicial), B2 (maturação avançada) e C (maduro). Número acima das barras = freqüência absoluta de machos.....10
- Figura 4.** Curva de primeira maturação para machos de *Dendropsophus minutus*.....12

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Variação sazonal do Índice de importância relativa (%) dos itens alimentares mais representativos da dieta de *D. minutus*.....28

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1.** Principais características histológicas utilizadas para determinar os estádios de desenvolvimento gonadal de *Dendropsophus minutus*.....07
- Tabela 2.** Proporção sexual mensal e sazonal de *Dendropsophus minutus* analisados pelo Teste de Qui-quadrado. * = valores significativos.....11
- Tabela 3.** Proporção de jovens e adultos de *Dendropsophus minutus* analisados pelo Teste de Qui-quadrado. * = valores significativos.....11
- Tabela 4.** Valores do coeficiente de correlação de Spearman (ρ) e da probabilidade associada com a hipótese nula (P) entre a frequência de indivíduos machos de *Dendropsophus minutus* nos estágios de maturação e as variáveis ambientais temperatura média mensal ($^{\circ}\text{C}$), precipitação acumulada mensal (mm) e umidade relativa média (%). * = Valores significativos ($P \leq 0,05$).....13

CAPÍTULO II

- Tabela 1.** Itens alimentares evidenciados na dieta de *Dendropsophus minutus*. %N: percentual numérico de cada item em relação ao número total de itens alimentares, %P: percentual do peso de um determinado item em relação ao peso total de itens, %FO: percentual de ocorrência de cada item alimentar, IIR: índice de importância relativa. L: larva, N: ninfa, A: adulto.....27

RESUMO GERAL

Este estudo descreve a biologia reprodutiva e alimentar de *Dendropsophus minutus*, com base na morfometria e análise histológica das gônadas correlacionadas com as variáveis ambientais e identificação das presas utilizadas pela referida espécie. Coletas mensais foram realizadas no período de um ano, em área de Floresta Ombrófila Mista no sul do Brasil. Foi obtido um total de 101 indivíduos, sendo 89 machos adultos, quatro fêmeas adultas, quatro machos juvenis e quatro juvenis sem sexo identificado. As gônadas e o trato digestório foram retirados. As gônadas foram processadas de acordo com a rotina histológica, sendo fixadas em Alfac, incluídas em paraplast, seccionadas com 7 um de espessura, coradas com hematoxilina e eosina e analisadas ao microscópio de luz. O estômago e o primeiro terço intestinal foram conservados em solução de formol 10% e posteriormente seccionados para identificação do material ingerido. Quanto à reprodução, com base na quantidade e os tipos de células germinativas, os machos tiveram os testículos classificados em imaturo, maturação inicial, maturação avançada e maduro enquanto que as fêmeas tiveram o ovário classificado no estágio maduro. Através das análises histológicas foi constatada a presença de espermatozoides ao longo de todo o ano, confirmada pela ocorrência de testículos em maturação avançada e/ou maduros, possibilitando caracterizar o ciclo reprodutivo como contínuo. O comprimento de primeira maturação para machos foi de 16,00 mm, não sendo possível determinar para as fêmeas. Os maiores valores do Índice Gonado-Somático (IGS) médio mensal, determinados apenas para os machos, foram observados de agosto a janeiro, corroborando os dados da distribuição mensal da frequência dos estádios de desenvolvimento testicular. As fêmeas com ovários maduros foram capturadas no mesmo período de ocorrência de machos maduros, correspondendo ao período de altos valores de IGS médio mensal dos machos, sugerindo uma maior atividade reprodutiva nas estações de primavera e verão. Em relação à biologia alimentar, 50 estômagos foram analisados e constatou-se que a dieta de *D. minutus* foi composta por dezoito taxa, todos pertencentes ao filo Arthropoda. Verificou-se uma variação no tamanho das presas ingeridas, uma vez que a espécie utilizou desde artrópodes pequenos, como Colembola, até artrópodes grandes, como Blatodea. Através da verificação dos taxa utilizados na dieta de *D. minutus*, constatou-se uma estratégia alimentar oportunista uma vez que a referida espécie utiliza tanto artrópodes com movimentação rápida quanto os de movimentação lenta. Dos três taxa mais importantes na dieta de *D. minutus*, que totalizam mais de 80% de importância relativa, Araneae e Diptera foram os mais frequentes e numerosos enquanto Lepidoptera foi mais importante em relação ao peso. Sazonalmente, Araneae prevaleceu no inverno e primavera, enquanto Lepidoptera prevaleceu no outono e Diptera no verão.

Palavras chave: Anura, Dieta, Espermatogênese, Hylidae, Reprodução

GENERAL ABSTRACT

This study describes the reproductive and feed biology of *Dendropsophus minutus*, based on morphology and histology of the gonads correlated with environmental variables and identification of items consumed by the species. Monthly samples were collected during one year in an area of Araucaria Forest in southern Brazil. A total of 101 individuals was obtained, 89 adult males, four adult females, four males and four juveniles with no identified sex. After obtaining morphometric data and macroscopic analysis, the gonads and the digestive tract were removed. The gonads were processed according to routine histological, being fixed in Alfac, embedded in Paraplast, sectioned, stained with hematoxylin and eosin and examined by light microscopy. The stomach and the intestine were preserved in 10 % formalin solution and subsequently sectioned for removal and identification of ingested material. As for reproduction, based on the amount and types of germ cells, males had testes classified into immature, early maturing, advanced mature and maturity while females collected had rated the ovary at mature stage. Through histological analysis showed the presence of spermatozoa throughout the year, as confirmed by the occurrence of testes in advanced and / or mature maturity, allowing to characterize the reproductive cycle as continuous. The length at first maturity for males was 16.00 mm, it is not possible to determine the females. The highest average monthly values of gonadal somatic index (GSI), determined only for males were observed from August to January, corroborating the data of monthly frequency distribution of stages of testicular development. Females with mature ovaries were captured in the same period of occurrence of mature males, corresponding to the period of high GSI average monthly values of males, suggesting greater reproductive activity in spring and summer seasons. Regarding the feeding biology, 50 stomachs were analyzed and it was found that the diet of *D. minutus* was composed of eighteen taxa, all belonging to the phylum Arthropoda. There was a variation in the size of preys, since the species used from small arthropods, such as Colembola, to very large arthropods, such as Blatodea. By checking the rate used in the diet of *D. minutus*, there was an opportunistic feeding strategy since this species utilizes both fast-moving arthropods as the slow moving. The three most important taxa in the diet of *D. minutus*, totaling more than 80 % relative importance, Araneae and Diptera were the most frequent and numerous, while Lepidoptera was most important in relation to weight. Seasonally, Araneae prevailed in winter and spring, while Lepidoptera and Diptera prevailed in autumn and summer. These data can support management plans and conservation of the species.

Key words: Anura, Diet, Spermatogenesis, Hylidae, Reproduction

PREFÁCIO

O Brasil é o país neotropical com maior riqueza de anuros no mundo, com mais de 900 espécies sendo que, 40% destas foram descritas nos últimos 26 anos (Pyron & Wiens, 2011, SBH, 2013). Dentre as famílias de anuros, Hylidae é a que apresenta a maior riqueza de espécies e ampla distribuição nas regiões tropicais e temperadas (Faivovich et al., 2005), sendo os seus representantes diversificados quanto a morfologia externa e modos reprodutivos (Haddad & Prado, 2005, Haddad et al., 2008).

Dentre os biomas brasileiros a Mata Atlântica, um “hotspots” da biodiversidade, é considerado o mais diverso, com 529 espécies de anuros, das quais cerca de 60% são endêmicas (Haddad et al., 2013). No entanto, a anurofauna da Mata Atlântica está sobre intensa ameaça (Eterovick et al., 2005).

O processo de antropização na Mata Atlântica afeta diretamente os anfíbios anuros por estes apresentarem estreita relação com o ambiente e reduzida plasticidade fisiológica para a execução de atividades biológicas básicas como reprodução e alimentação (Young et al., 2004). As ameaças para os anfíbios deste bioma estão relacionados principalmente a destruição de habitats (Toledo 2009), ocupação imobiliária, expansão agrícola e pecuária, e degradação da biota nativa através da introdução de espécies exóticas e presença de patógenos (Silvano & Segalla, 2005). Esta situação pode ser agravada devido à ação sinérgica desses fatores que, através da alteração da abundância e riqueza, podem afetar a estrutura geral das comunidades, ocasionando um efeito cascata de perda de biodiversidade (Silvano & Segalla, 2005).

Mudanças comportamentais e alterações fisiológicas são fatores importantes que modulam o ciclo reprodutivo em relação às condições ambientais, sendo importantes na manutenção dos anfíbios no ambiente (Duellman & Trueb, 1994; Wells, 2007). Todo o controle do ciclo reprodutivo requer que os organismos sejam capazes de detectar mudanças ocorridas no meio e ajustar a sua fisiologia através do sistema endócrino, podendo alterar processos e estratégias para obtenção de energia (Callard et al., 1978, Wells, 2007).

Alguns dos estudos de reprodução em anuros, realizados no Brasil, abordaram sobre diferentes temas, tais como: análise de vocalização relacionada com período reprodutivo (Toledo & Haddad, 2005), comportamento reprodutivo como seleção sexual (Wogel & Pombal, 2007), ecologia reprodutiva (Lucas et al., 2008), padrão reprodutivo com marcação de indivíduos em campo (Rodrigues et al., 2003) e ciclo reprodutivo utilizando análises morfológicas (Oliveira et al, 2002, Santos & Oliveira, 2007, Ferreira et al., 2008, Ferreira & Mehana, 2012, Leivas et al., 2012a e Villagra et al., 2012).

A energia alocada e utilizada no processo reprodutivo provém da alimentação (Fitzpatrick, 1976, Oliveira & Vicentini, 1998), sendo de grande interesse a caracterização da dieta das espécies. Os anfíbios são geralmente considerados oportunistas, sendo a dieta baseada na disponibilidade e tamanho da presa. Diferenças morfológicas encontradas em diferentes grupos de anfíbios (presença de ventosas, ausência de língua), bem como a variação ontogenética, determinam a utilização de diferentes presas para diferentes grupos ou idade. As variações ambientais produzem alterações

comportamentais que influenciam a escolha de presas e nas formas utilizadas para localizar, capturar e ingeri-las (Duellman & Trueb, 1994).

Quanto a biologia alimentar, alguns dos estudos realizados no Brasil descrevem a dieta (Teixeira & Coutinho, 2002, , Maneyro et al., 2004, Miranda et al., 2006, Pazinato et al., 2011, Rosa et al., 2011 e Leivas et al., 2012b).

Apesar da importância ecológica que os anfíbios exercem no sistema (manutenção da biodiversidade e do equilíbrio trófico, e o fato de algumas espécies serem utilizadas como bioindicadoras de qualidade ambiental), o crescente processo de antropização e o declínio das populações de anuros, associados à escassez de dados biológicos, inviabiliza a exata compreensão da utilização de habitats por diferentes espécies do referente grupo.

O presente estudo objetiva caracterizar a biologia reprodutiva e alimentar de *Dendropsophus minutus* em ambiente de Floresta Ombrófila Mista no sul do Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Callard, I.P.; Callard, G.V; Lance, V.; Bollafi, J.L. & Rosset, J.S., 1978. Testicular regulation in nonmammalian vertebrates. *Biology of Reproduction*, 18, 1, 16-43.
- Duellman, W.E. & Trueb, L. 1994. *Biology of Amphibians*. The Johns Hopkins University Press: Baltimore and London, pp.670.
- Eterovick, P.C., Carnaval, A.C.O.Q., Borges-Nojosa; D.M., Silvano, D.L., Segalla, M.V. & Sazima. I. 2005. An overview of amphibian declines in Brazil with new records from Serra do Cipó, State of Minas Gerais. *Biotropica*, 37, 2, 166-179.
- Faivovich, J., Haddad, C.F.B., Garcia, P.C.A., Frost, D.R., Campbell, J.A. & Wheller, W.C. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with

- special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. Bulletin American Museum of Natural History. New York, 294, pp. 240.
- Ferreira, A., Mehanna, M. & Prado, C.A.P. 2008. Morphologic and morphometric analysis of testis of *Pseudis limellum* (Cope, 1862) (Anura, Hylidae) during the reproductive cycle in the Pantanal, Brazil. Biocell, 32, 185-194.
- Ferreira, A. & Mehanna, M. 2012. Seasonal testicular changes in *Dendropsophus minutus* Peters, 1872 (Anura, Hylidae). Biocell, 36, 2, 57-62.
- Fitzpatrick, L.C. 1976. Life history patterns of storage and utilization of lipids for energy in amphibians. American Zoologist, 16, 725-732.
- Haddad, C.F.B. & Prado, C.P.A. 2005. Reproductive Modes in Frogs and Their Unexpected Diversity in the Atlantic Forest of Brazil. BioScience, 55, 3.
- Haddad, C.F.B., Toledo, L.F. & Prado, C.P.A. 2008. Anfíbios da Mata Atlântica: guia dos anfíbios anuros da Mata Atlântica. Editora Neotropica, São Paulo.
- Haddad, C.F.B., Toledo, L.F., Prado, C.P.A., Loebmann, D., Gasparini, J.L. & Sazima, I. 2013. Guia dos anfíbios da Mata Atlântica – Diversidade e Biologia. Anolis Book, pp. 544.
- Leivas, P.T.; Moura, M.O. & Favaro, L.F. 2012 (a). The Reproductive Biology of the Invasive *Lithobates catesbeianus*. Journal of Herpetology, 46, 2, 153–161.
- Leivas, P.T.; Leivas, F.W.T. & Moura, M. O. 2012 (b). Diet and trophic niche of *Lithobates catesbeianus* (Amphibia: Anura). Zoologia (Curitiba. Impresso), 29, 405-412.
- Lucas, E.M., Brasileiro, C.A., Oyamaguchi, H.M. & Martins, M. 2008. The reproductive ecology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae): new data from natural temporary ponds in the Brazilian Cerrado and a review throughout its distribution. Journal of Natural History, 42, 35-36, 2305-2320.
- Maneyro, R.; Naya, D.E.; Rosa, I; Canavero, A. & Camargo, A. 2004. Diet of the South American frog *Leptodactylus ocellatus* (Anura, Leptodactylidae) in Uruguay. Iheringia, Série Zoologia, 94, 1, 57-61.
- Miranda, T., Ebner, M., Solé, M. & Kwet, A. 2006. Spatial, seasonal and intrapopulation variation in the diet of *Pseudis cardosoi* (Anura: Hylidae)

- from the Araucária Plateau of Rio Grande do Sul, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 1, 2, 121-130.
- Oliveira, C. & Vicentini, C.A. 1998. Descrição anatômica dos testículos e corpos adiposos de *Scinax fuscovarius* (Anura, Hylidae). *Biociências*, 6, 1, 79-88.
- Oliveira, C.; Zanetoni, C. & Zieri, R. 2002. Morphological observations on the testes of *Physalaemus cuvieri* (Amphibia, Anura). *Revista Chilena de Anatomia*, 20, 263-268.
- Pazinato, D.M.M., Trindade, A.O., Oliveira, S.V. & Cappellari, L.H. 2011. Dieta de *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815) na Serra do Sudeste, Rio Grande do Sul, Brasil. *Biotemas*, 24, 4, 147-151.
- Pyron, R.A. & Wiens, J.J. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 543-583.
- Rodrigues, D.J., Lopes, F.S. & Uetanabaro, M. 2003. Padrão reprodutivo de *Elachistocleis bicolor* (anura, Microhylidae) na serra da bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brasil. *inheringia, Série Zoologia*, 93, 4, 365-371.
- Rosa, I., Canavero, A., Maneyro, R. & Camargo, A. 2011. Trophic Niche Variation and Individual Specialization in *Hypsiboas pulchellus* (Duméril and Bibron, 1841) (Anura, Hylidae) from Uruguay. *South American Journal of Herpetology*, 6, 2, :98-106.
- Santos, L.R.S. & Oliveira, C. 2007. Morfometria testicular durante o ciclo reprodutivo de *Dendropsophus minutus* (Peters) (Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 24, 1, 64-70.
- SBH, 2013. <http://www.sbherpetologia.org.br/>, acessado em 04/04/2014.
- Silva, J.M.C. & Casteleti, C.H.M. 2005. Estado da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira. Belo Horizonte: SOS Mata Atlântica / Conservação Internacional, pp. 43-59.
- Silvano, D.L. & Segalla, M.V. 2005. Conservação de anfíbios no Brasil. *Megadiversidade*, 1, 1.
- Teixeira, R.L. & Coutinho E.S. 2002. Hábito alimentar de *Proceratophrys boiei* (Wied) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) em Santa Teresa, Espírito Santo, sudeste do Brasil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão*, 14, 13-20.

- Toledo, L.F. 2009. Anfíbios como bioindicadores. In: Sigrid Neumann-Leitão; Soraya El-Deir. (Org.). Bioindicadores da qualidade ambiental. Recife: Instituto Brasileiro Pró-Cidadania, 1, pp. 196-208.
- Toledo, L.F. & Haddad C.F.B. 2005. Reproductive biology of *Scinax fuscomarginatus* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. *Journal of Natural History*; 39, 32, 3029–3037.
- Villagra, A.L.I., Cisint, S.B, Crespo, C.A., Medina, M.F., Ramos, I. & Fernández, S.N. 2012. Spermatogenesis in *Leptodactylus chaquensis*. Histological study. *Zygote*, 1-9 in Cambridge University Press.
- Wells, K.D. 2007. *The Ecology & Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago and London.
- Wogel, H. & Pombal Jr., J.P.2007. Comportamento reprodutivo e seleção sexual em *Dendropsophus bipunctatus* (Spix, 1824) (Anura, Hylidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 47, 13, 165-174.
- Young, B.E., Stuart, S.N., Chanson, J.S., Cox, N.A. & Boucher, T.M. 2004. *Disappearing jewels: The status of NewWorld amphibians*. NatureServe, Arlington.

CAPÍTULO I

Biologia reprodutiva de *Dendropsophus minutus* (Amphibia: Anura) em região de Mata Atlântica

RESUMO

Este estudo descreve a biologia reprodutiva de *Dendropsophus minutus* com base na morfometria e análise histológica das gônadas e correlação com as variáveis ambientais temperatura, umidade relativa e precipitação. Coletas mensais foram realizadas no período de um ano, em área de Floresta Ombrófila Mista no sul do Brasil. Foi obtido um total de 101 indivíduos, sendo 89 machos adultos, quatro fêmeas adultas, quatro machos juvenis e quatro juvenis sem sexo identificado. Após obtenção dos dados morfométricos e análises macroscópicas, as gônadas foram processadas de acordo com a rotina histológica, sendo fixadas em Alfac, incluídas em paraplast, coradas com hematoxilina e eosina e analisados ao microscópio de luz. Com base na quantidade e os tipos de células germinativas, os machos tiveram os testículos classificados em imaturo, maturação inicial, maturação avançada e maduro, enquanto que as fêmeas coletadas tiveram o ovário classificado no estágio maduro. Através das análises histológicas foi constatada a presença de espermatozoides ao longo de todo o ano, confirmada pela ocorrência de testículos em maturação avançada e/ou maduros, possibilitando caracterizar o ciclo reprodutivo como contínuo. O comprimento de primeira maturação para machos foi de 16,00 mm, não sendo possível determinar para as fêmeas. Os maiores valores de Índice Gonado-Somático (IGS) médio mensal, determinados apenas para os machos, foram observados de agosto a janeiro, corroborando os dados da distribuição mensal da frequência dos estágios de desenvolvimento testicular. As fêmeas com ovários maduros foram capturadas no mesmo período de ocorrência de machos maduros, correspondendo ao período de altos valores de IGS médio mensal dos machos, sugerindo uma maior atividade reprodutiva nas estações de primavera e verão.

ABSTRACT

This study describes the reproductive biology of *Dendropsophus minutus* based on morphology and histology of the gonads and correlation with these environmental variables: temperature, relative humidity and rainfall. Monthly samples were collected during one year in an area of Araucaria Forest in southern Brazil. A total amount of 101 individuals was obtained, 89 adult males, four adult females, four males and four juveniles with no identified sex. After obtaining morphometric data and macroscopic analysis, the gonads were processed according to histological routine, being fixed in Alfac and embedded in Paraplast. The cut sections were stained with hematoxylin and eosin and examined by light microscope. Based on the amount and types of germ cells, the males had testes classified as immature, early maturing, advanced mature and maturity while the collected females had the ovary rated at mature stage. It has showed through histological analysis the presence of spermatozoa throughout the year, as confirmed by the occurrence of testes in advanced and / or mature maturity, allowing to characterize the reproductive cycle as continuous. The length at first maturity for males was 16.00 mm, it is not possible to determine the females. The highest average monthly values of gonadal somatic index (GSI), determined only for males were observed from August to January, corroborating the data of monthly frequency distribution of stages testicular development. Females with mature ovaries were captured in the same period of occurrence as mature males, corresponding to the period of high GSI average monthly values of males, suggesting greater reproductive activity in spring and summer seasons.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o país neotropical com maior riqueza de anuros no mundo, aproximadamente 913 espécies (SBH, 2013), sendo que 40% destas foram descritas nos últimos vinte e seis anos (Pyron & Wiens, 2011). Dentre os biomas brasileiros, o bioma Mata Atlântica, considerado um “hotspots” da biodiversidade, é o mais diverso, com 529 espécies de anuros, das quais cerca de 60% são endêmicas (Silva & Casteleti, 2005; Haddad et al., 2013).

As ameaças para a anurofauna do bioma Mata Atlântica, de acordo com Toledo (2009) estão relacionadas a fatores de origem antrópica que levam a destruição de habitats, principalmente a redução drástica da vegetação nativa (Morellato & Haddad, 2000) para a ocupação imobiliária, expansão agrícola e pecuária e degradação da biota nativa, através da introdução de espécies exóticas e presença de patógenos (Silvano & Segalla, 2005). Esta situação pode ser agravada devido à ação sinérgica desses fatores que, através da alteração da abundância e da riqueza, podem afetar a estrutura geral das comunidades, ocasionando um efeito cascata de perda de biodiversidade (Silvano & Segalla, 2005).

Mudanças dos fatores abióticos e antropização do ambiente podem acarretar alterações fisiológicas dos anuros, afetando o ciclo reprodutivo e por consequência diminuindo as populações ou ocasionando extinção local.

Os fatores abióticos como temperatura, pluviosidade e fotoperíodo interferem nos ciclos reprodutivos de anfíbios (Oliveira & Andrade, 1997; Oliveira & Vicentini, 1998; Oliveira et al. 2002) e determinam a época favorável do ano em que os anuros se mantêm ativos, determinando sua distribuição estacional (Bertolucci & Rodrigues, 2002; Wells, 2007). Em regiões tropicais, onde a sazonalidade é bem definida, a ocorrência e a reprodução da maioria das espécies estão associadas à estação chuvosa (Prado et al., 2005).

Alguns dos estudos de reprodução em anuros, realizados no Brasil, abordaram sobre diferentes temas, tais como: análise de vocalização relacionada com período reprodutivo (Toledo & Haddad, 2005), comportamento reprodutivo como seleção sexual (Wogel & Pombal, 2007), ecologia reprodutiva (Lucas et al., 2008), padrão reprodutivo com marcação de indivíduos em campo (Rodrigues et

al., 2003) e ciclo reprodutivo utilizando análises morfológicas (Oliveira et al, 2002, Santos & Oliveira, 2007, Ferreira et al., 2008, Ferreira & Mehhana, 2012, Leivas et al., 2012 e Villagra et al., 2012).

Apesar de relatos sobre a importância ecológica dos anfíbios no sistema, a escassez de dados de autoecologia deste grupo inviabiliza um melhor entendimento da utilização do ambiente pelo referido grupo. Por ser a reprodução o processo que mantém os estoques naturais das espécies, o presente estudo objetiva caracterizar o processo reprodutivo da espécie *Dendropsophus minutus* (Peters, 1872) em uma área antropizada do bioma Mata Atlântica, no sul do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo está localizada ao leste do estado do Paraná, região subtropical do Brasil (25°17'09"S e 49°00'05"W). Os locais de coleta, com altitude aproximada de 918 m, compreendem dois pontos amostrais formados por poças artificiais. Na área predomina a vegetação de Floresta Ombrófila Mista que sofre intensa ação antrópica pela exploração da madeira. O clima da área de estudo é do tipo temperado subtropical (Cfb) (Peel et al., 2007).

A espécie *Dendropsophus minutus*, objeto do presente estudo, representante da família Hylidae, apresenta tamanho reduzido (Santos & Oliveira, 2007) e ampla distribuição geográfica, ocorrendo do norte da América do Sul até o Uruguai e Misiones na Argentina, e da costa atlântica aos territórios do leste boliviano (Lutz, 1958).

Coletas mensais foram realizadas de janeiro a dezembro de 2012, no período noturno, com esforço amostral de três horas consecutivas, utilizando a metodologia de busca ativa (Crump et al., 1994). Após a captura, os espécimes foram transportados ao laboratório, onde foram sacrificados de acordo com a legislação vigente do Conselho Federal de Biologia (CFBIO - Resolução 308).

Posteriormente, os exemplares foram mensurados quanto ao comprimento rostro-cloacal (CRC) e massa corporal (MC), utilizando-se, respectivamente, paquímetro de precisão 0,01 mm e balança de precisão 0,001 g, sendo então seccionados ventralmente, para a exposição das gônadas, possibilitando a determinação macroscópica do sexo e do desenvolvimento gonadal. As gônadas

foram retiradas e pesadas (MG), e parte do tecido gonadal foi submetido à análise histológica.

O procedimento histológico constituiu-se da fixação da gônada em ALFAC por 18 horas, seguindo os procedimentos de rotina histológica, com desidratação em álcoois, diafanização em xilol, inclusão em paraplast, cortes na espessura de 7 μm e coloração com Hematoxilina e Eosina (HE). As lâminas confeccionadas foram analisadas em microscopia de luz e com base na quantidade e tipos celulares do parênquima gonadal, o sexo e os estádios de desenvolvimento das gônadas foram caracterizados e descritos, sendo a determinação macroscópica confirmada ou corrigida. A análise histológica foi utilizada para a caracterização dos estágios de desenvolvimento gonadal, utilizando como referência os estudos de Costa et al. (1998 a, b).

O desenvolvimento gonadal foi determinado pelo Índice Gônado-Somático (IGS), sendo mensurado através da massa da gônada em relação à massa total do indivíduo, representado pela expressão: $\text{IGS} = (\text{MG}/\text{MC}) \times 100$, onde: (MG) corresponde a massa da gônada e (MC) a massa corporal do indivíduo. A partir da determinação individual do IGS, calculou-se o IGS médio mensal para a confecção da curva de maturação.

A caracterização do período reprodutivo foi baseada nas análises do IGS individual, na curva de maturação e na distribuição mensal dos estádios de desenvolvimento gonadal, os quais foram determinados a partir das análises histológicas das gônadas.

A proporção sexual foi analisada, através da aplicação do teste do χ^2 (Qui-quadrado), com grau de liberdade 1 e 0.05 de significância ($\chi^2 > 3.84$), de acordo com Vazzoler (1996).

A análise da proporção de jovens e adultos foi realizada para sexos agrupados, sendo considerados indivíduos jovens aqueles que apresentaram gônadas no estágio imaturo e indivíduos adultos os exemplares que apresentaram gônadas nos outros estádios de desenvolvimento gonadal. Através do teste do χ^2 testaram-se possíveis diferenças na distribuição de jovens e adultos ao longo do período de estudo.

O comprimento de primeira maturação foi estabelecido considerando-se o menor comprimento rostro-cloacal (CRC) no qual 50% dos indivíduos amostrados

foram classificados como adultos (L_{50}). O L_{50} foi estimado através da curva que relaciona a frequência relativa de indivíduos adultos com o ponto médio das classes de comprimento, obtidas através do Postulado de Sturges (Sokal & Rohlf, 1981). A equação utilizada para ajustar a curva foi expressa pela seguinte fórmula: $Fr = 1 - e^{-aCRC^b}$, onde: (Fr) frequência relativa de indivíduos adultos, (e) base do logaritmo neperiano, (a e b) coeficientes estimados pelo método dos mínimos quadrados aplicado na relação linear obtida pela transformação das variáveis envolvidas, (CRC) ponto médio das classes de comprimento rostro-cloacal. Esta análise foi realizada somente para machos, uma vez que o número de fêmeas obtidas não possibilitou a referida análise.

Para determinar a relação entre os fatores abióticos com a atividade reprodutiva de *D. minutus*, foi utilizado o teste não-paramétrico correlação de Spearman. Foram testadas as correlações das variáveis climáticas temperatura média mensal (°C), precipitação acumulada mensal (mm) e umidade relativa do ar média mensal (%) com a ocorrência dos estágios de maturação sexual mensal e com o IGS médio mensal para a população de machos.

No presente estudo, as estações do ano foram definidas como: Verão - de janeiro a março, Outono - de abril a junho, Inverno - de julho a setembro e Primavera - de outubro a dezembro.

RESULTADOS

Foram capturados 101 indivíduos de *D. minutus*, sendo 89 machos adultos, quatro machos juvenis, quatro fêmeas adultas, e quatro indivíduos juvenis sem sexo identificado.

O CRC dos machos adultos variou de 16,00 a 24,06 mm e a MC variou de 0,104 a 0,977 g. O CRC das fêmeas variou de 21,00 a 24,25 mm e a MC variou de 0,451 a 1,145 g. Para os espécimes juvenis, o CRC variou entre 12,70 e 18,70 mm e a MC variou de 0,090 a 0,392 g.

Os dados de tamanho e conteúdo dos lóculos seminíferos foram utilizados para caracterizar microscopicamente o desenvolvimento testicular. Ao longo do desenvolvimento, os lóculos aumentam de tamanho e a quantidade de espermátogônias e espermátócitos mostra-se reduzida, enquanto a quantidade de

espermátides e espermatozoides passam a predominar. A análise histológica permitiu caracterizar quatro estádios de desenvolvimento testicular. Não foram encontrados indivíduos com o testículo esvaziado.

Os testículos foram classificados em Imaturo (A), Maturação inicial (B1), Maturação avançada (B2) e Maduro (C). As quatro fêmeas coletadas tiveram o ovário classificado no estágio Maduro (C) (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1- Principais características histológicas utilizadas para determinar os estádios de desenvolvimento gonadal de *Dendropsophus minutus*.

Características		
Estágio	Machos	Fêmeas
Imaturo (A)	Lóculos seminíferos de tamanho reduzidos, parcialmente abertos, contendo predomínio de espermatogônias.	-
Maturação inicial (B1)	Lóculos seminíferos aumentados em relação ao estágio anterior, contendo predomínio de espermatogônias e espermatozoides.	-
Maturação avançada (B2)	Lóculos seminíferos aumentados em relação ao estágio anterior, com poucas espermatogônias, predomínio de espermátides e poucos espermatozoides.	-
Maduro (C)	Lóculos seminíferos de maior tamanho, em relação aos demais estágios, contendo grande quantidade de espermatozoides.	Predomínio de folículos ovarianos repletos de grânulos de vitelo

Considerando que a determinação do IGS para indivíduos juvenis não foi realizada porque o peso da gônada foi inferior a 0,001 g, os menores valores de IGS individual para os machos de *D. minutus* foram observados nos meses de fevereiro a julho (Figura 2A). Os dados do IGS individual corroboram a curva de maturação dos machos (Figura 2B).

A análise da distribuição percentual mensal do desenvolvimento testicular, baseada nas análises histológicas, mostrou a presença de machos contendo espermatozoides em praticamente todo o período de análise, representados pela ocorrência de testículos em maturação avançada (B2) e maduros (C), permitindo caracterizar o processo reprodutivo como contínuo. Machos com testículos maduros foram observados em número reduzido em relação à amostra total, totalizando três indivíduos no período de estudo, sendo obtidos nos meses de julho,

setembro e dezembro (Figura 3). A ocorrência de fêmeas maduras, totalizando quatro indivíduos obtidos nos meses de fevereiro, outubro, novembro e dezembro, foi associada com os maiores valores de IGS médio mensal de machos.

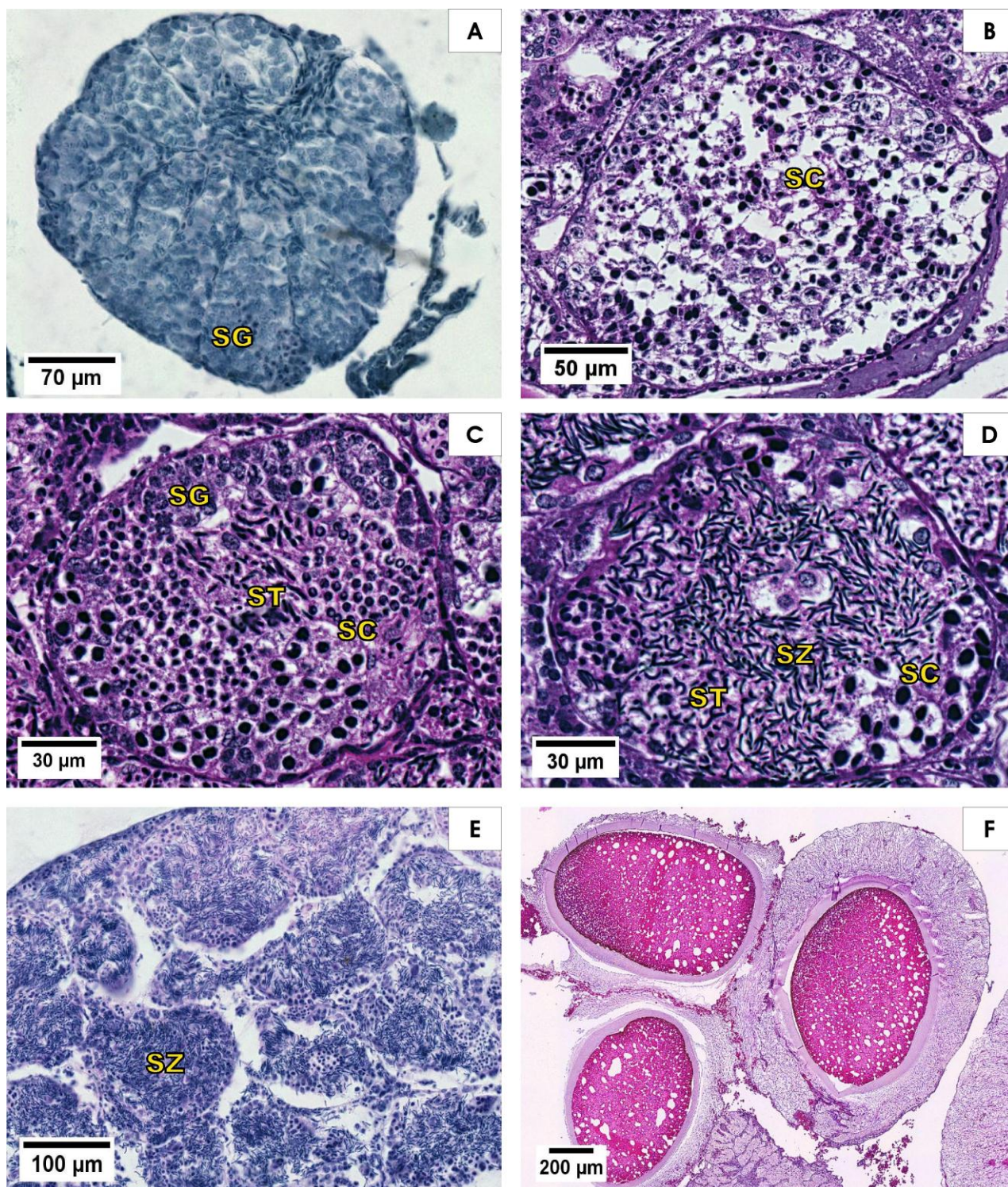


Figura 1- Cortes histológicas de testículos e ovário de *Dendropsophus minutus*. A- Testículo Imaturo (A) com predomínio de espermatogônias (SG); B- Testículo em Maturação inicial (B1) com predomínio de espermatócitos (SC); C e D- Testículos

em Maturação Avançada (B2), demonstrando espermatogônias (SG), espermatócitos (SC), espermatídes (ST) e espermatozóides (SZ); E-Testículo Maduro (C) com predomínio de espermatozóides (SZ); F- Ovário Maduro (C) com folículos ovarianos maduros, repletos de grânulos de vitelo. Coloração HE.

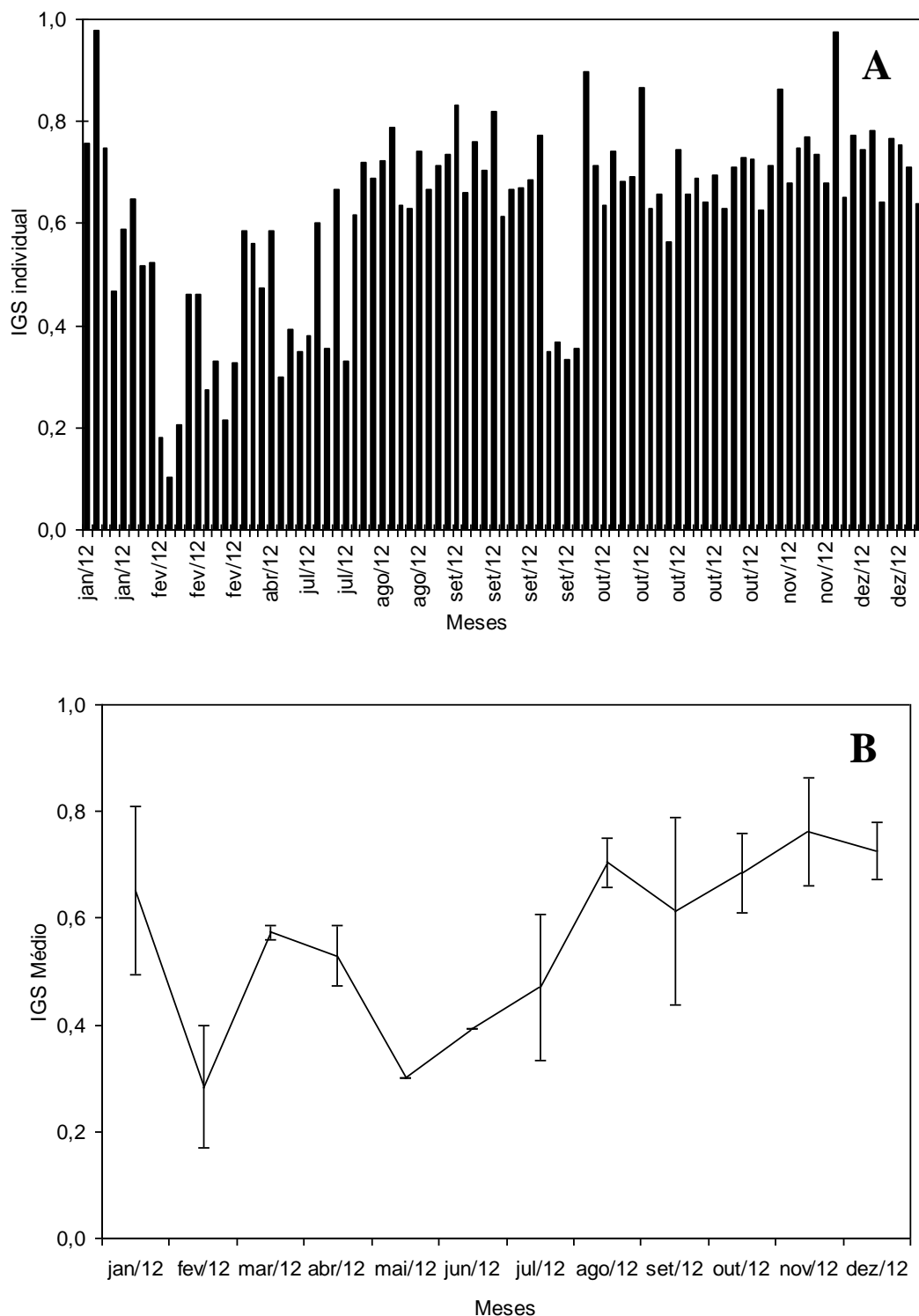


Figura 2- Valores de IGS individuais (A) e valores de IGS médios mensais (B) para machos de *Dendropsophus minutus*.

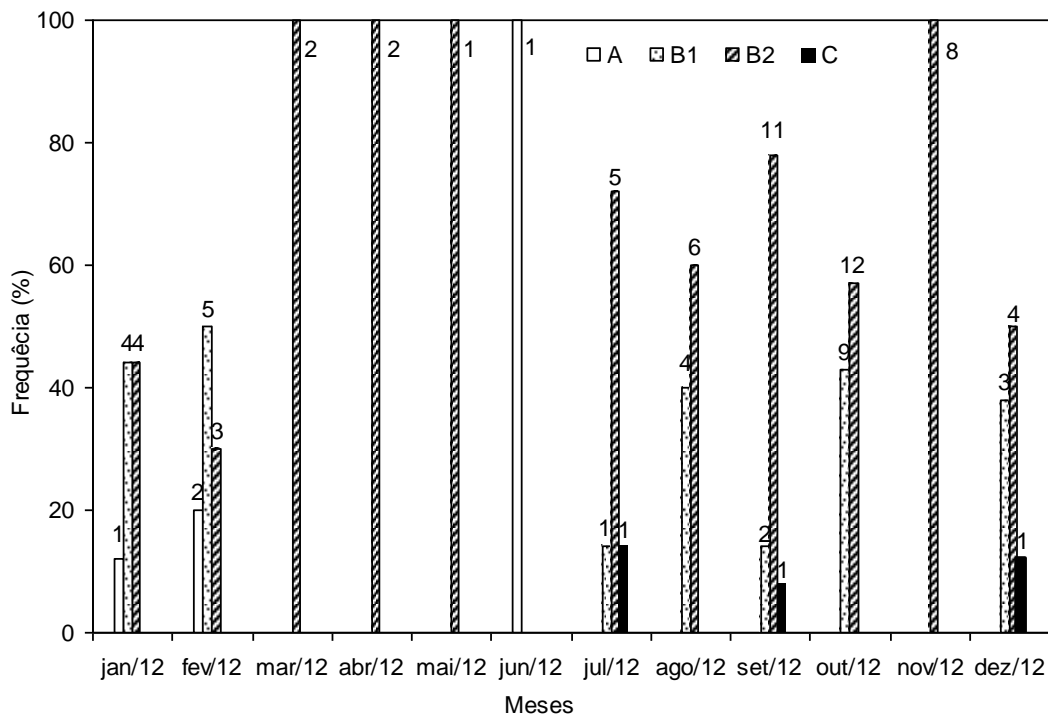


Figura 3. Distribuição mensal da freqüência percentual dos estágios de desenvolvimento testicular de *Dendropsophus minutus*. A (imaturo), B1 (maturação inicial), B2 (maturação avançada) e C (maduro). Número acima das barras = freqüência absoluta de machos.

Machos predominaram em todos os meses ao longo do período de estudo, entretanto, diferenças significativas na proporção sexual ocorreram nos meses de janeiro, julho, agosto, setembro, outubro, novembro e dezembro. As fêmeas foram obtidas nos meses de fevereiro, outubro, novembro e dezembro, sendo capturada uma fêmea em cada mês. As análises sazonais da proporção sexual demonstraram diferenças significativas entre todas as estações (Tabela 2).

A análise da proporção de jovens e adultos demonstrou o predomínio de indivíduos adultos em praticamente todo o período, exceto do mês de junho. Jovens ocorreram nos meses de janeiro, fevereiro, junho e dezembro, em números reduzidos. Diferenças significativas no número de jovens e adultos foram verificadas nos meses de julho a dezembro. Sazonalmente, diferenças significativas foram encontradas no verão, inverno e primavera (Tabela 3).

Tabela 2 – Proporção sexual mensal e sazonal de *Dendropsophus minutus* analisados pelo Teste de Qui-quadrado. * = valores significativos.

Meses	Fêmeas	Machos	χ^2	Estações	Fêmeas	Machos	χ^2
Jan/12	0	9	9,00*				
Fev/12	1	10	7,36*	Ver	1	21	18,18*
Mar/12	0	2	2,00				
Abr/12	0	2	2,00				
Mai/12	0	1	1,00	Out	0	4	4,00*
Jun/12	0	1	1,00				
Jul/12	0	7	7,00*				
Ago/12	0	10	10,00*	Inv	0	31	31,00*
Set/12	0	14	14,00*				
Out/12	1	21	18,18*				
Nov/12	1	8	5,44*	Pri	3	34	28,90*
Dez/12	1	8	5,44*				

Tabela 3 – Proporção de jovens e adultos de *Dendropsophus minutus* analisados pelo Teste de Qui-quadrado. * = valores significativos.

Meses	Jovens	Adultos	χ^2	Estações	Jovens	Adultos	χ^2
Jan/12	1	8	5,44*				
Fev/12	4	9	1,92	Ver	5	19	8,16*
Mar/12	0	2	0,00				
Abr/12	0	2	0,00				
Mai/12	0	1	0,00	Out	1	3	1,00
Jun/12	1	0	1,00				
Jul/12	0	7	7,00*				
Ago/12	0	10	10,00*	Inv	0	31	31,00*
Set/12	0	14	14,00*				
Out/12	0	22	22,00*				
Nov/12	0	8	8,00*	Pri	2	40	34,38*
Dez/12	2	8	3,60				

O comprimento de primeira maturação sexual para machos foi estimado em 14,85 mm e o comprimento em que todos os machos se encontram adultos foi de 22,97 mm (Figura 4). O menor CRC para macho em maturação, no presente estudo, foi 16,00 mm.

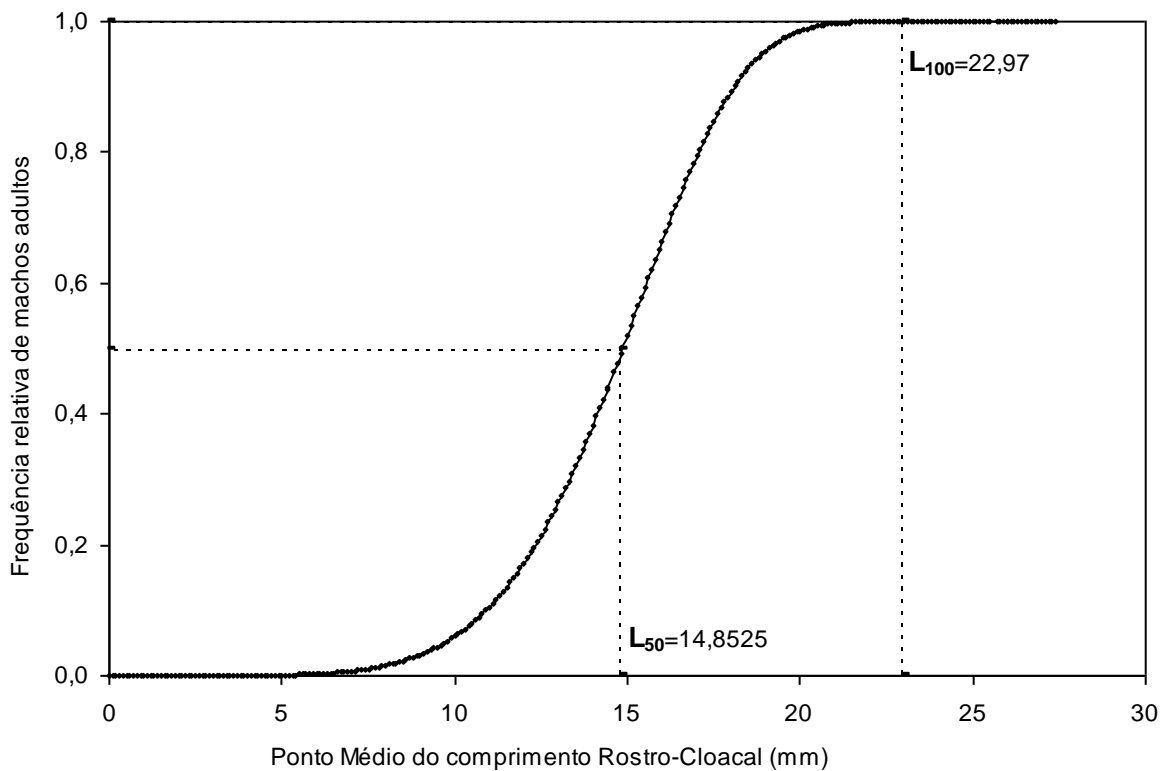


Figura 4. Curva de primeira maturação para machos de *Dendropsophus minutus*.

Para a verificação da correlação entre o desenvolvimento gonadal e os fatores abióticos, utilizou-se somente os machos. Os estádios analisados, caracterizados histologicamente, foram: Imaturo (A), Maturação inicial (B1) e Maturação avançada + Maduro (B2+C), agrupados por possuírem espermatozóides nos lóculos seminíferos.

Valores significativos foram obtidos para o estágio A com a precipitação e para os estádios B2+C com a umidade relativa, indicando maior desenvolvimento com a diminuição da umidade relativa média. Não foram detectados valores significativos dos estádios de maturação com a temperatura ao longo do ano. (Tabela 4).

As análises de correlação entre o IGS médio mensal dos machos e as variáveis abióticas não indicaram valores significativos.

Tabela 4 - Valores do coeficiente de correlação de Spearman (ρ) e da probabilidade associada com a hipótese nula (P) entre a frequência de indivíduos machos de *Dendropsophus minutus* nos estágios de maturação e as variáveis ambientais temperatura média mensal ($^{\circ}\text{C}$), precipitação acumulada mensal (mm) e umidade relativa média (%). * = Valores significativos ($P \leq 0,05$).

Estádios	Machos					
	Temperatura		Precipitação		Umidade relativa	
	ρ	P	P	P	ρ	P
A	0,5463	0,0660	0,7257	0,0075*	0,3545	0,2581
B1	0,4649	0,1277	0,1816	0,5721	-0,3705	0,2357
B2 e C	0,0878	0,7859	-0,3093	0,3279	-0,6678	0,0176*

DISCUSSÃO

O número de indivíduos de *D. minutus* capturados no presente estudo, considerando adultos de ambos os sexos e juvenis, foi superior ao de outros trabalhos realizados com a mesma espécie nas regiões sudeste (Santos & Oliveira, 2007; Santos et al., 2012 e Santos & Oliveira, 2008) e centro-oeste (Ferreira & Mehanna, 2012), sendo que em nenhum destes ocorreu a captura de fêmeas e de juvenis.

O maior número de espécimes obtidos, em relação aos outros trabalhos realizados com a mesma espécie, pode ser resultado de um maior esforço amostral. Utilizamos a técnica de captura auditiva associada com a técnica de busca direta, uma vez que a espécie apresenta o porte reduzido, somando-se ao fato de que fêmeas e juvenis não vocalizam, dificultando a captura.

Estudos reprodutivos que utilizam a microscopia para caracterizar os estádios de desenvolvimento gonadais permitem obter dados confiáveis para delinear o ciclo reprodutivo e caracterizar a biologia reprodutiva das espécies, entretanto esta ferramenta de estudo, ainda é de uso restrito nos trabalhos de anfíbios.

De maneira geral, os testículos apresentam um desenvolvimento menos acentuado que os ovários, refletindo em uma variação pequena nos valores de IGS. No presente estudo, os altos valores de IGS médio mensal, determinados para os machos, foram observados de agosto a janeiro, corroborando os dados da distribuição mensal da frequência dos estádios de desenvolvimento testicular. As

fêmeas com ovários maduros foram capturadas no mesmo período de ocorrência de machos maduros, correspondendo ao período de altos valores de IGS médio mensal dos machos, sugerindo uma maior atividade reprodutiva nas estações de primavera e verão.

O ciclo reprodutivo contínuo, caracterizado no presente estudo por apresentar espermatozoides praticamente durante todo o período analisado (exceto no mês de junho), corroborou os dados obtidos para a mesma espécie por Oliveira et al., (2007) e Santos & Oliveira (2007) e para outros Hilídeos de pequeno porte, como *Lysapsus limellum* (Ferreira et al., 2008) *Dendropsophus nanus*, *Pseudis paradoxa* e *Scinax acuminatus* (Ferreira et al., 2009). A determinação de ciclo descontínuo para machos de *D. minutus* foi relatada por Ferreira e Mehanna (2012), sendo caracterizado pela diminuição de lóculos seminíferos contendo espermátides e espermatozoides em um período de cinco meses do ano.

Apesar da reprodução ser considerada contínua, observamos um período de maior de atividade reprodutiva nos meses de agosto a janeiro, corroborado pela maior frequência de testículos nos estádios B2 e C e pelo aumento dos valores de IGS. Assim, considerando que o desenvolvimento larvário de *D. minutus* dura cerca de três meses (Eterovik & Sazima, 2004), os espécimes juvenis capturados para este estudo, provavelmente provêm de desovas ocorridas nos meses de temperaturas mais elevadas.

A determinação do comprimento de primeira maturação (CRC_{50}), apesar de pouco utilizada nos estudos de reprodução de anfíbios, fornece dados importantes referentes a biologia da espécie analisada. Para determinar o CRC_{50} faz-se necessário a obtenção de indivíduos jovens e adultos, fato este complicado, uma vez que espécimes jovens não são capturados em muitos dos estudos realizados. A obtenção do referido resultado amplia o conhecimento da biologia reprodutiva e permite inferir sobre a estrutura da população e a utilização do ambiente pela mesma, nos diferentes estágios do ciclo de vida.

Nosso resultado indica que o CRC_{50} de *D. minutus* correspondeu a 61% do CRC máximo obtido no período de estudo. Utilizando a mesma metodologia empregada neste estudo, Prado & Uetanabaro (2000) determinaram para *Lysapsus limellus* o CRC_{50} que correspondeu a 69% do CRC máximo. Entretanto, a maioria

dos estudos utiliza o valor do CRC do menor macho em processo reprodutivo, sendo este um dado que não reflete a reprodução da população. Para a espécie *Ranitomeya virolinensis* (Valderrama-Vernaza et al., 2010) o CRC de maturidade sexual foi determinado através do CRC do menor indivíduo com espermatozoides livres nos lóculos seminíferos, representando assim, 81% do CRC máximo obtido pelos autores, o que nos permite considerar que o CRC do menor indivíduo considerado adulto pode não representar o CRC₅₀ da referida espécie.

Para a espécie *D. minutus*, este estudo realizado em região de Mata Atlântica, demonstrou uma relação de aumento da produção de espermatozoides com a diminuição da umidade relativa (agosto a novembro), enquanto os resultados de Ferreira e Mehanna (2012), obtidos para a mesma espécie na região do Cerrado, relacionaram a queda na produção de espermátides e espermatozoides com a diminuição da temperatura e da precipitação. Estes resultados nos permite inferir que a relação do processo reprodutivo com os fatores abióticos se alteram de acordo com a região onde a população encontra-se instalada, demonstrando um grau de dependência entre a fisiologia reprodutiva e fatores abióticos, associados a localização geográfica.

Para os estudos reprodutivos, a análise histológica mostrou-se como uma ferramenta eficaz, permitindo descrever de maneira clara os detalhes do processo e podendo ser corroborada com outras análises, conferindo ao estudo maior confiabilidade nos resultados. Nossos resultados foram baseados principalmente nas análises dos machos, uma vez que a obtenção de fêmeas foi escassa. O ciclo reprodutivo de *D. minutus* foi caracterizado como contínuo para os machos da espécie, através da ocorrência de espermatozoides, praticamente durante todo o período de estudo. A maior atividade reprodutiva ocorreu entre os meses de agosto a janeiro e a entrada de espécimes jovens no sistema deu-se nos meses de maiores precipitações acumuladas. A determinação do CRC₅₀ fornece resultados precisos da população em estudo, em relação a entrada dos jovens no processo reprodutivo, permitindo um melhor entendimento do uso do ambiente em diferentes fases de vida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bertoluci, J. & Rodrigues, M.T. 2002. Seasonal patterns of breeding activity of Atlantic Rainforest anurans at Boracéia, Southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 23, 161-167.
- Costa, C.L.S.; Lima, S.L.; Andrade, D.R. & Agostinho, C.L. 1998 a. Caracterização morfológica dos estádios de desenvolvimento do aparelho reprodutor masculino de rã-touro, *Rana catesbeiana*, no Sistema Anfigranja de Criação Intensiva. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 27, 4, 651-657.
- Costa, C.L.S.; Lima, S.L.; Andrade, D.R. & Agostinho, C.L. 1998 b. Caracterização morfológica dos estádios de desenvolvimento do aparelho reprodutor masculino de rã-touro, *Rana catesbeiana*, no Sistema Anfigranja de Criação Intensiva. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 27, 4, 651-657.
- Crump, M.L., Scott, N.J., Heyer, W.R., Hayek, M.A., McDiarmid, R.W., Hayek, L.C., & Foster, M.S. 1994. Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians. Smithsonian Institution Press, pp. 384.
- Eterovik, P.C. & Sazima, I. 2004. Anfíbios da Serra do Cipó – Minas Gerais - Brasil. Belo Horizonte, Editora Puc Minas, pp. 152.
- Ferreira, A., Mehanna, M. & Prado, C.A.P. 2008. Morphologic and morphometric analysis of testis of *Pseudis limellum* (Cope, 1862) (Anura, Hylidae) during the reproductive cycle in the Pantanal, Brazil. *Biocell*, 32, 185-194.
- Ferreira, A., Rosa, A.B.S. & Mehanna, M. 2009. Organização celular dos testículos em Hylidae e Leptodactylidae, no Pantanal (Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil). *Acta Scientiarum, Biological Sciences*, 31, 4, 447-452.
- Ferreira, A. & Mehanna, M. 2012. Seasonal testicular changes in *Dendropsophus minutus* Peters, 1872 (Anura, Hylidae). *Biocell*, 36, 2, 57-62.
- Haddad, C.F.B., Toledo, L.F., Prado, C.P.A., Loebmann, D., Gasparini, J.L. & Sazima, I. 2013. Guia dos anfíbios da Mata Atlântica – Diversidade e Biologia. Anolis Book, pp. 544.
- Leivas, P.T.; Moura, M.O. & Favaro, L.F. 2012. The Reproductive Biology of the Invasive *Lithobates catesbeianus*. *Froglog* (Milton Keynes), 104, 57-58.
- Lucas, E.M., Brasileiro, C.A., Oyamaguchi, H.M., & Martins, M. 2008. The reproductive ecology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae): new

- data from natural temporary ponds in the Brazilian Cerrado and a review throughout its distribution. *Journal of Natural History*, 42, 35-36, 2305-2320.
- Lutz, B. 1958. Anfíbios novos e raros das serras costeiras do Brasil. *Mem. Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 2, p.373-399.
- Morellato, L.P.C. & Haddad, C.F.B. 2000. Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. *Biotropica*, 32, 786-792.
- Oliveira, C. & Andrade, U.J.A. 1997. Anatomia dos ovários e corpos adiposos de *Scinax fuscovaria* (Anura, Hylidae). *Acta Biologica Leopoldensia*, 19, 2, 173-183.
- Oliveira, C. & Vicentini, C.A. 1998. Descrição anatômica dos testículos e corpos adiposos de *Scinax fuscovarius* (Anura, Hylidae). *Biociências*, 6, 1, 79-88.
- Oliveira, C., Zanetoni, C. & Zieri, R. 2002. Morphological observations on the testes of *Physalaemus cuvieri* (Amphibia, Anura). *Revista Chilena de Anatomia*, 20, 263-268.
- Oliveira, E.F., Feio, R.N. & Matta, S.L.P. 2007. Aspectos reprodutivos de *Dendropsophus minutus* (Peters, 1872) no município de Viçosa, Minas Gerais. *Ceres*, 54, 313, 230-238.
- Peel M.C., Finlayson B.L., McMahon, T.A. 2007. Updated world map of the Köppen–Geiger climate classification. *Hydrol Earth Syst Sci* 11:1633–1644.
- Prado, C.P.A. & Uetanabaro, M. 2000. Reproductive biology of *Lysapsus limellus*, Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) in the Pantanal, Brazil. *Zoocriaderos*, 3, 1, 25-30.
- Prado, C.P.A., Uetanabaro, M. & Haddad, C.F.B. 2005. Breeding activity patterns, reproductive modes, and habitat use by anurans (Amphibia) in a seasonal environment in the Pantanal, Brazil. *Amphibia-Reptilia*, Holanda, 26, 2, 211-221.
- Pyron, R.A. & Wiens, J.J. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 543-583.
- Rodrigues, D.J., Lopes, F.S. & Uetanabaro, M. 2003. Padrão reprodutivo de *Elachistocleis bicolor* (anura, Microhylidae) na serra da bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Inheringia, Série Zoologia*, 93, 4, 365-371.

- Santos, L.R.S. & Oliveira, C. 2007. Morfometria testicular durante o ciclo reprodutivo de *Dendropsophus minutus* (Peters) (Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 24, 1, 64-70.
- Santos, L.R.S. & Oliveira, C. 2008. Histological aspects and structural characteristics of the testes of *Dendropsophus minutus* (Anura, Hylidae). *Micron*, 39, 8, 1266-1270.
- Santos, L.R.S., Franco-Belussi, L. & Oliveira, C. 2012. Germ Cell Dynamics during the Annual Reproductive Cycle of *Dendropsophus minutus* (Anura: Hylidae). *Zoological Science*, 28, 840-844.
- SBH, 2013. <http://www.sbherpetologia.org.br/>, acessado em 04/04/2014.
- Silva, J.M.C. & Casteleti, C.H.M. 2005. Estado da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira. Belo Horizonte: SOS Mata Atlântica / Conservação Internacional, pp. 43-59.
- Silvano, D.L. & Segalla, M.V. 2005. Conservação de anfíbios no Brasil. *Megadiversidade*, 1, 1, 79-86.
- Sokal, R. R. & F. J. Rohlf. 1981. *Biometry*. New York: W. H. Freeman, pp. 859.
- Toledo, L.F. & Haddad C.F.B. 2005. Reproductive biology of *Scinax fuscomarginatus* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. *Journal of Natural History*; 39, 32, 3029–3037.
- Toledo, L.F. 2009. Anfíbios como bioindicadores. In: Sigrid Neumann-Leitão; Soraya El-Deir. (Org.). *Bioindicadores da qualidade ambiental*. Recife: Instituto Brasileiro Pró-Cidadania, 1, pp. 196-208.
- Valderrama-Vernaza, M., Serrano-Cardozo, V.H. & Ramírez-Pinilla, M.P. 2010. Reproductive Activity of the Andean Frog *Ranitomeya virolinensis* (Anura: Dendrobatidae). *Copeia*, 2, 211-217.
- Vazzoler, A. E. M. 1996. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: Eduem, pp. 169.
- Villagra, A.L.I., Cisint, S.B, Crespo, C.A., Medina, M.F., Ramos, I. & Fernández, S.N. 2012. *Spermatogenesis in Leptodactylus chaquensis*. Histological study. Zygote, Cambridge University Press, 1-9.
- Wagner, W.E. Jr. 1989. Social correlates in male calling behaviour of blanchard's cricket frog, *Acris crepitans blanchardi*. *Ethology*, 82, 27-45.

Wells, K.D. 2007. The Ecology & Behavior of Amphibians. Chicago and London:
The University of Chicago Press, pp.1148.

Wogel, H. & Pombal Jr., J.P. 2007. Comportamento reprodutivo e seleção sexual
em *Dendropsophus bipunctatus* (Spix, 1824) (Anura, Hylidae). Papéis Avulsos
de Zoologia, 47, 13, 165-174.

CAPÍTULO II

Biologia alimentar de *Dendropsophus minutus* (Amphibia: Anura) em região de Mata Atlântica

RESUMO

Este estudo descreve a biologia alimentar de *Dendropsophus minutus* com base na identificação dos itens consumidos pela referida espécie. Coletas mensais foram realizadas no período de um ano, em área de Floresta Ombrófila Mista no sul do Brasil, sendo obtido um total de 101 indivíduos. Em laboratório, foram removidos o estômago e parte do intestino, conservados em solução de formol 10% e posteriormente seccionados para retirada e identificação do material ingerido. Dos 101 estômagos analisados, treze estavam vazios, vinte e sete continham apenas itens digeridos e onze continham apenas vegetais, os quais não foram utilizados nas análises. Através da análise de 50 estômagos, constatou-se que a dieta de *D. minutus* foi composta por dezoito taxa, todos pertencentes ao filo Arthropoda. Verificou-se uma variação no tamanho das presas ingeridas, uma vez que a espécie utilizou desde artrópodes pequenos, como Colembola, até artrópodes muito grandes, como Blatodea. Através da verificação dos taxa utilizados na dieta de *D. minutus*, constatou-se uma estratégia alimentar oportunista uma vez que a referida espécie utiliza tanto artrópodes com movimentação rápida (Araneae e Diptera), quanto os de movimentação lenta (larvas de Lepidoptera). O táxon Araneae e Diptera foram os mais frequentes e numerosos, respectivamente, na dieta da espécie, e Lepidoptera foi o mais importante em relação ao peso. Os maiores valores de importância relativa foram pertencentes aos taxa Araneae, Lepidoptera, e Diptera, com Araneae prevalecendo no inverno e primavera, Diptera no verão e Lepidoptera no outono. Através da análise de similaridade de Bray-Curtis observou-se a formação de dois grupos, outono e verão, primavera e inverno, com 56% e 68% de similaridade, respectivamente. Esses dados podem subsidiar planos de manejo e conservação da espécie.

ABSTRACT

This study describes the feeding biology of *Dendropsophus minutus* based on identification of the items consumed by the species. Monthly samples were collected during one year in an area of Araucaria Forest in southern Brazil and a total of 101 individuals were obtained. In the laboratory, the stomach and the intestine were removed, preserved in 10 % formalin solution and subsequently sectioned for removal and identification of ingested material. Out of 101 stomachs that were examined, thirteen were empty, twenty-seven contained only digest items and eleven contained only vegetables, which were not used in the analysis. Through the analysis of 50 stomachs, it was found that the diet of *D. minutus* was composed of eighteen *taxa*, all belonging to the phylum Arthropoda. There was a variation in the size of preys, since the species used from small arthropods, such as Colembola, to very large arthropods, such as Blatodea. By checking the rate used in the diet of *D. minutus*, there was an opportunistic feeding strategy since the species utilizes both fast-moving arthropods (Araneae and Diptera), and the slow movement (Lepidoptera larvae). The Araneae and Diptera *taxa* were the most frequent and numerous, respectively, of its diet, and Lepidoptera was the most important in relation to weight. The highest values of relative importance were belonging to Araneae, Lepidoptera and Diptera, Araneae with prevailing rate in winter and spring, Diptera and Lepidoptera in summer and fall. Through similarity analysis of Bray - Curtis the formation of two groups were observed, autumn and summer, spring and winter , with 56 % and 68 % similarity, respectively. These data can support management plans and conservation of the species

INTRODUÇÃO

A maioria das espécies de anfíbios é predadora generalista e se alimenta de invertebrados (Rodrigues et al., 2004, Solé et al., 2009), tendo o tamanho das presas, geralmente, relacionado ao comprimento rostro-cloacal e largura da cabeça (Toledo et al., 2007). Anuros podem apresentar uma dieta especializada em determinado tipo de presa, como ocorre com as espécies da família Dendrobatidae, que utilizam em sua dieta os artrópodes da família Formicidae (Biavati et al., 2004; Wells, 2007). Ainda, há espécies, como a rã touro, que se alimentam de pequenos vertebrados (Leivas et al., 2012).

Os anuros, por apresentarem suas dietas baseadas na disponibilidade do recurso alimentar, são geralmente considerados oportunistas (Duellman & Trueb, 1994). Entretanto há restrições morfológicas que influenciam na atividade alimentar, tais como a ontogenia, o tamanho dos indivíduos e especializações relacionadas à captura do alimento (Duellman & Trueb, 1994). Ainda, a variação sazonal dos recursos alimentares disponíveis e a presença ou não de competidores, são outros fatores que determinarão o seu comportamento e a dieta (Isacch & Barg, 2002).

Os anfíbios, por serem ectotérmicos, não geram calor a partir da ingestão de alimentos, sendo que cerca de 50% da energia obtida pela alimentação é convertida em crescimento e reprodução (Crump, 2010). Ainda, por controlarem as populações de muitas espécies, principalmente de invertebrados, e servirem como presas para muitos organismos, ocupam uma posição trófica importante nos ecossistemas terrestre e aquático (Toledo et al., 2007; Wells, 2007).

É importante salientar que a antropização do ambiente, tais como, a fragmentação e/ou perda de habitat, tem especial impacto nos anfíbios anuros por estes apresentarem estreita relação com o ambiente (Young et al., 2004) influenciando diretamente na execução de atividades biológicas básicas como reprodução e alimentação. Nos últimos anos a literatura científica ressalta um crescente número de extinções referentes a espécies de anfíbios, relacionadas aos processos antrópicos (Alford & Richards, 1999, Daszak et al., 2003). Ainda, pela alta sensibilidade dos organismos as variações ambientais, os mesmos vêm sendo utilizados como bioindicadores da qualidade ambiental (Toledo, 2009).

. Dentro deste contexto, o presente estudo foi realizado no bioma Mata Atlântica, no sul do Brasil, o qual se encontra antropizado, com áreas fragmentadas e habitats reduzidos (Hirota, 2005). A espécie analisada, *Dendropsophus minutus* (Lutz, 1958) da família Hylidae, anteriormente denominada de *Hyla minuta* (Faivovich et al., 2005) apresenta tamanho reduzido (Santos & Oliveira, 2007), com distribuição geográfica ocorrendo do norte da América do Sul até o Uruguai e Misiones na Argentina, e da costa atlântica aos territórios do leste boliviano (Lutz, 1958). Objetiva-se caracterizar a biologia alimentar da referida espécie, no bioma Mata Atlântica, a fim de melhor compreender a utilização dos recursos alimentares disponibilizados no ambiente, refletindo as relações interespecíficas.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo está localizada ao leste do estado do Paraná, região subtropical do Brasil (25°17'09"S e 49°00'05"W). Os locais de coleta, localizados no Primeiro Planalto paranaense, com altitude aproximada de 918 m, compreendem dois pontos amostrais formados por poças artificiais, refletindo um ambiente antropizado. De acordo com Peel et al., (2009) o clima da área de estudo é do tipo temperado subtropical (Cfb) com predomínio de vegetação de Floresta Ombrófila Mista, a qual sofre intensa exploração da madeira.

Coletas mensais foram realizadas de janeiro a dezembro de 2012, no período noturno, geralmente entre as 19 e 22 horas, utilizando a metodologia de busca ativa (Crump et al., 1994). Após a localização e a captura, os espécimes foram acondicionados em caixas e transportados ao laboratório, onde foram sacrificados de acordo com a legislação vigente do Conselho Federal de Biologia (CFBIO - Resolução 301). As capturas realizadas para a obtenção dos exemplares foram permitidas através das licenças de coleta de números 10277-1 e 34385., emitidas pelo Instituto Chico Mendes (SISBio).

Em laboratório, os exemplares foram mensurados nas variáveis biométricas: comprimento rostro-cloacal (CRC) e massa corporal (MC), utilizando-se, respectivamente, paquímetro de precisão 0,01 mm e balança de precisão 0,001 g. Posteriormente, os exemplares foram seccionados ventralmente, para a exposição do trato digestório. O estômago e o primeiro terço do intestino, de cada exemplar,

foram removidos e conservados em solução de formol 10%. Posteriormente, os estômagos e intestinos foram seccionados para retirada do material ingerido, possibilitando a identificação e quantificação dos itens alimentares, através de microscópio estereoscópio.

A identificação dos itens alimentares ocorreu até o menor nível taxonômico possível, utilizando-se de chaves de identificação e do auxílio de especialistas. Foram utilizados para as análises apenas os estômagos contendo material que foi possível a identificação dos respectivos conteúdos, não sendo utilizados os estômagos vazios e aqueles que continham apenas material digerido e vegetal.

Para análise dos conteúdos estomacais foram utilizados os métodos de frequência de ocorrência (%FO) e frequência numérica (%N), descritos por Hyslop (1980), e representados pelas fórmulas, respectivamente: **$\%FO = (ei/E) \times 100$** , onde %FO = frequência percentual de ocorrência do item amostrado, *ei* = quantidade de estômagos com o item *i*, *E* = número total de estômagos; **$\%N = (ni/N) \times 100$** , onde %N = frequência percentual numérica do item amostrado, *ni* = número do item *i* amostrado, *N* = número total de itens amostrados.

O índice de importância relativa (IRI) (Pinkas et al., 1971) de cada item alimentar foi calculado através da fórmula: **$IRI = (\%N + \%P) \times \%FO$** , onde %N = o percentual numérico de cada item em relação ao número total de itens alimentares, %P = o peso de um determinado item em relação ao peso total de itens, %FO = o percentual de ocorrência de cada item alimentar. Os valores de IRI foram padronizados em percentual, de acordo com Cortés (1997).

Para avaliar os padrões de utilização dos itens alimentares, sazonalmente no período de estudo, foram utilizadas as análises de cluster. Estas análises foram realizadas a partir da similaridade de Bray-Curtis, gerada a partir dos valores percentuais do índice de importância relativa de cada item alimentar. Para a análise de cluster os grupos foram unidos pela média dos seus valores de similaridade (UPGMA) e posteriormente, a análise ANOSIN foi utilizada para testar a significância dos agrupamentos.

No presente estudo, as estações do ano foram definidas como: Verão - de janeiro a março, Outono - de abril a junho, Inverno - de julho a setembro e Primavera - de outubro a dezembro.

RESULTADOS

Foram capturados 101 indivíduos de *D. minutus*, sendo 89 machos adultos, quatro machos juvenis, quatro fêmeas adultas, e quatro indivíduos juvenis sem sexo identificado. O CRC dos machos adultos variou de 16,00 a 24,06 mm e a MC variou de 0,104 a 0,977 g. O CRC das fêmeas variou de 21,00 a 24,25 mm e a MC variou de 0,451 a 1,145 g. Para os espécimes juvenis, o CRC variou entre 12,70 e 18,70 mm e a MC variou de 0,090 a 0,392 g.

Dos 101 estômagos analisados, treze estavam vazios, vinte e sete continham apenas itens digeridos e onze continham apenas vegetais, os quais não foram utilizados nas análises. Através da análise de 50 estômagos, constatou-se que a dieta de *D. minutus* foi composta por dezoito *taxa*, todos pertencentes ao filo Arthropoda, distribuídos em três classes (Arachnida, Entognatha e Insecta) oito ordens (Acari, Araneae, Blatodea, Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Orthoptera e Entomobryomorpha), uma subordem (Polyphaga), três infraordens (Cucujiformia, Cicadomorpha e Fulgoromorpha) e duas famílias (Crysomelidae e Formicidae) (Tabela 1). Foi encontrado um total de 67 itens nos estômagos analisados, sendo que o número máximo de itens encontrados em um único estômago foi quatro.

O *taxa* Araneae foi o item mais frequente, ocorrendo em 32% dos estômagos, e o mais numeroso, correspondendo a 28,36% do número de presas ingeridas (N=19) e 12,62% do peso total de presas. O segundo item mais frequente foi Diptera (20%), correspondendo a 14,93% do número total de presas (N=10) e 1,95% do peso total das presas. Em relação ao peso, os itens mais importantes foram Lepidoptera e Blatodea, com 33,36% e 22,32% do peso total, respectivamente. Blatodea, Entomobryomorpha e Formicidae foram pouco frequentes, ocorrendo apenas um exemplar de cada ao longo do ano (Tabela 1).

Através da análise do índice de importância relativa verificou-se que os maiores valores correspondem a Araneae (49,59), Lepidoptera (19,20) e Diptera (12,77), totalizando mais de 80% de importância na dieta (Tabela 1).

Tabela 1 – Itens alimentares evidenciados na dieta de *Dendropsophus minutus*. %N: percentual numérico de cada item em relação ao número total de itens alimentares, %P: percentual do peso de um determinado item em relação ao peso total de itens, %FO: percentual de ocorrência de cada item alimentar, IIR: índice de importância relativa. L: larva, N: ninfa, A: adulto.

	ITENS	%N	%P	%FO	IIR	
	Restos de Arthropoda	2,99	0,05	4,00	0,46	
ARACHNIDA	Acari	2,99	0,05	4,00	0,46	
	Araneae	28,36	12,62	32,00	49,59	
HEXAPODA	Restos de Hexapoda	2,99	0,05	4,00	0,46	
INSECTA	Restos de Insecta	7,46	6,52	10,00	5,29	
	Restos de Pterygota	7,46	2,47	6,00	2,25	
	Blatodea	1,49	22,32	2,00	1,80	
	Restos de Coleoptera	2,99	0,97	4,00	0,60	
	Polyphaga	2,99	1,93	4,00	0,74	
	Cucujiformia	1,49	0,02	2,00	0,11	
	<i>Crysolmelidae</i>	1,49	1,37	2,00	0,22	
	Diptera	14,93	1,95	20,00	12,77	
	Cicadomorpha (1N)	1,49	0,16	2,00	0,13	
	Fulgoromorpha (2N e 1A)	4,48	0,80	6,00	1,20	
	<i>Formicidae</i>	1,49	0,02	2,00	0,11	
	Lepidoptera (L)	8,96	33,36	12,00	19,20	
	Orthoptera (N)	4,48	15,32	6,00	4,49	
	ENTOGNATHA	Entomobryomorpha	1,49	0,02	2,00	0,11

Apesar dos *taxa* Díptera, Lepidoptera e Araneae terem ocorrido durante todo o período de estudo, a análise sazonal demonstrou que Diptera tem uma importância maior no verão (40,51), enquanto que Lepidoptera tem importância maior no outono (57,66) e Araneae prevalece no inverno (88,43) e primavera (56,26) (Figura 1). Considerando a somatória dos valores de IIR (%) dos três principais *taxa* acima referidos, obtivemos para o verão IIR (%) de 83,50, para o outono o valor de 100, para o inverno 99,89 e para a primavera IIR (%) de 81,31.

Os resultados de agrupamento utilizando análise de similaridade de Bray-Curtis não tiveram valores significativos (ANOSIM $p = 0,5796$).

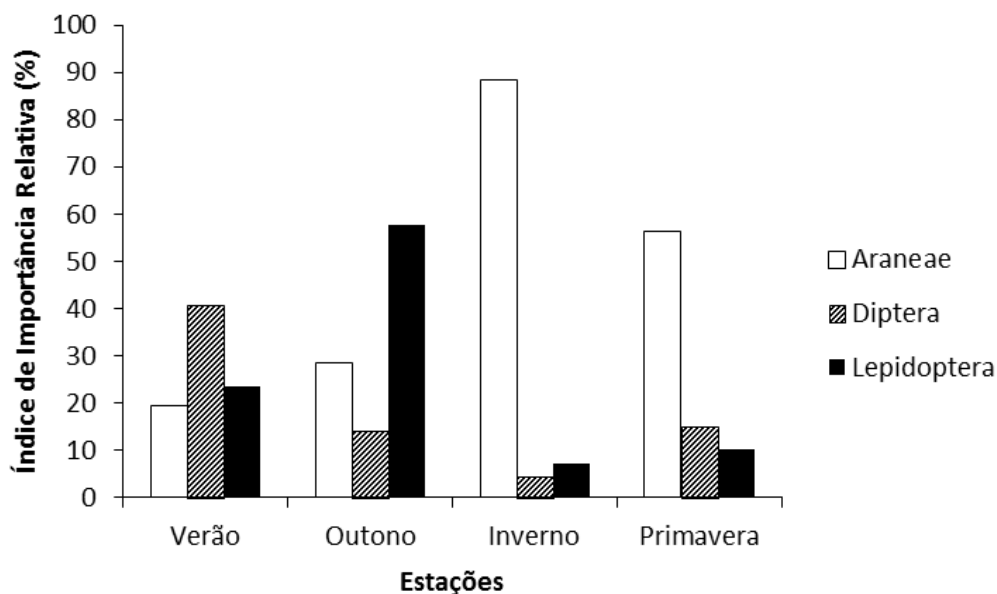


Figura 1 – Variação sazonal do Índice de importância relativa (%) dos itens alimentares mais representativos da dieta de *D. minutus*.

DISCUSSÃO

A dieta dos anuros é um reflexo das estratégias alimentares usada pelas espécies, podendo utilizar em menor quantidade presas de grande porte ou consumir presas de pequeno porte em maior quantidade (Solé & Rödder, 2010). Através da análise da dieta de *D. minutus* observou-se, no presente estudo, uma grande variação no tamanho e no número de presas ingeridas. A espécie utilizou desde artrópodes pequenos, como Colembola, até artrópodes grandes, como Blatodea, um exemplar que representou 40% da massa corporal do anfíbio. Apesar da baixa frequência de larvas de Lepidoptera, a sua importância está associada com o maior tamanho e peso do item enquanto Diptera foi associada à frequência numérica, pois os itens apresentavam o tamanho e o peso reduzidos.

Através da verificação dos taxa utilizados na dieta de *D. minutus* constatou-se uma estratégia alimentar oportunista, de acordo com o descrito por Toledo et al. (2007), provavelmente utilizando de diferentes táticas de captura, uma vez que a referida espécie utiliza tanto artrópodes com movimentação rápida (Araneae e Diptera), quanto os de movimentação lenta (larvas de Lepidoptera) (Chapman, 1998).

O esforço amostral de coleta neste trabalho, realizado mensalmente durante o período de um ano, refletiu em resultados precisos na caracterização da dieta de *D. minutus*. Em trabalhos com um menor esforço amostral realizados com *D. minutus*, Santos et al. (2004) realizou coletas no período seco (outubro e novembro) e no período úmido (junho e julho) enquanto Van Sluys & Rocha (1998) realizou coleta somente no mês de julho, relataram uma dieta composta por dez e seis taxa, respectivamente. Nosso resultado indica a importância de um maior esforço amostral, com coletas mensais no período de um ano, favorecendo um maior entendimento na variação sazonal de ocorrência de presas.

A alta frequência do táxon Araneae, no presente estudo, corrobora os resultados obtidos por Sluys & Rocha (1998) no norte do Brasil, entretanto difere do resultado encontrado por Santos et al. (2004) no nordeste do Brasil, onde o táxon Araneae não foi evidenciado entre os itens alimentares ingeridos por *D. minutus*. A diferença em relação à presença do táxon Araneae na dieta pode estar relacionada com a disponibilidade da presa entre as diferentes áreas de ocorrência da espécie *D. minutus*, e/ou também com a presença de outros predadores sobre o referido táxon, diminuindo a disponibilidade deste recurso.

Restos vegetais não foram considerados como itens utilizados na dieta por se apresentarem íntegros na porção final do trato digestório e também por concordar com Santos et al. (2004), que relatam ser a presença de vegetais uma ingestão acidental na área de forrageio, durante a captura de presas invertebrados. Contudo, é importante considerar que para algumas espécies de anuros os vegetais podem fazer parte da dieta, como relatado por Silva et al. (1989) e Das (1996).

Os itens mais importantes da dieta, Araneae, Diptera e Lepidoptera, com ocorrência em todos os meses durante o período de estudo, apresentaram uma variação sazonal em relação à frequência de ocorrência, indicando que a disponibilidade dos recursos alimentares se altera de acordo com a sazonalidade, interferindo na dieta.

Por controlarem as populações de muitas espécies, principalmente de invertebrados, e servirem como presas para muitos organismos, os anuros ocupam uma posição trófica importante, atuando como um elo entre os ecossistemas terrestre e aquático. O conhecimento da biologia alimentar em anuros é importante

para determinar a área de forrageio, os taxa utilizados na dieta, a posição trófica que estes ocupam no ecossistema, permitindo melhor entendimento da utilização do ambiente pelas espécies. Os resultados do estudo da alimentação de *D. minutus* indicam que a espécie se alimenta exclusivamente de artrópodes de diferentes taxa, com predomínio de Araneae, Diptera e Lepidoptera. O fato do Filo Arthropoda conter um grande número de espécies, pode favorecer a espécie *D. minutus* a se estabelecer em ambientes antropizados, utilizando nichos anteriormente ocupados por outras espécies de anuros sensíveis a perturbações, que diminuíram em número ou foram extintas localmente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alford, R.A. & Richards, S.J. 1999. Global Amphibian Declines: A Problem in Applied Ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 30, 133-165.
- Biavati, G.M., Wiederhecker, H.C. & Colli, G.R. 2004. Diet of *Epipedobates flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) in a Neotropical Savanna. *Journal of Herpetology*, 38, 510-518.
- Chapman, R.F. 1998. *The insects: structure and function*. 4^o edition. Cambridge: Cambridge University Press, p. 151-174.
- Conselho Federal de Biologia. Dispõe sobre os procedimentos de captura, contenção, marcação, soltura e coleta de animais vertebrados *in situ* e *ex situ*, e dá outras providências. Resolução n. 301 de 28/12/2012.
- Cortés, E. 1997. A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54, 726-738.
- Crump, M.L., Scott, N.J., Heyer, W.R., Hayek, M.A., McDiarmid, R.W., Hayek, L.C., & Foster, M.S. 1994. *Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians*. Smithsonian Institution Press, pp. 384.
- Crump, M.L. 2010. Amphibian diversity and life history. In *Amphibian Ecology and Conservation: A Handbook of Techniques* (C.K. Dodd Junior, eds.). Oxford University Press, Oxford, pp.3-17.
- Das, I. 1996. Folivory and seasonal changes in diet in *Rana hexadactyla* (Anura, Ranidae). *Journal of Zoology*, London, 238, 785-794.

- Daszak, P., Cunningham, A. & Hyatt, A.D. 2003. Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, 9, 141-150.
- Duellman, W. & Trueb, L.. 1994. *Biology of Amphibians*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, pp. 670.
- Faivovich, J., Haddad, C.F.B., Garcia, P.C.D.A., Frost, D.R., Campbell, J.A. & Wheeler, W.C. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: a phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 294, 1-240.
- Hirota, M.M. 2005. Monitoramento da cobertura da Mata Atlântica Brasileira. In: Galindo-Leal, C. & Câmara, I.G. (Ed.). *Mata Atlântica: Biodiversidades, Ameaças e Perspectivas*. Belo Horizonte: SOS Mata Atlântica / Conservação Internacional, pp. 60-65.
- Hyslop, E. J. 1980. Stomach contents analysis - a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17, 411-429.
- Isacch, J.P, Barg, M. 2002. Are bufonid toads specialized ant-feeders? A case test from the Argentinian flooding pampa. *J. Nat. Hist., London*, 36, 2005-2012.
- Leivas, P.T., Leivas, F.W.T. & Moura, M. O. 2012. Diet and trophic niche of *Lithobates catesbeianus* (Amphibia: Anura). *Zoologia (Curitiba. Impresso)*, 29, 405-412.
- Peel M.C., Finlayson B.L., McMahon, T.A. 2007. Updated world map of the Köppen–Geiger climate classification. *Hydrol Earth Syst Sci* 11:1633–1644.
- Pinkas, L., Oliphant, M. S. & Iversor I. L. K. 1971. Food habits of albacore, bluefin tuna, and bonito in Californian waters. *Fisheries Bulletin*, 152, 1-105.
- Rodrigues, D.J., Uetanabaro, M. & Prado, C.P.A. 2004. Seasonal and ontogenetic variation in diet composition of *Leptodactylus podicipinus* (Anura, Leptodactylidae) in the southern Pantanal, Brazil. *Revista Española de Herpetología*, 18, 19-28.
- Santos, L.R.S. & Oliveira, C. 2007. Morfometria testicular durante o ciclo reprodutivo de *Dendropsophus minutus* (Peters) (Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 24, 1, 64-70.
- Santos, E.M.; Almeida, A.V. & Vasconcelos, S.D. 2004. Feeding habits of six anuran (Amphibia: Anura) species in a rainforest fragment in Northeastern Brazil. *Inheringia, Série Zoologia*, 94, 4, 433-438.

- Silva, H.R., Britto-Pereira, M.C. & Caramaschi, U. 1989. Frugivory and seed dispersal by *Hyla truncata*, a Neotropical tree-frog. *Copeia*, Lawrence, 785-794.
- Solé, M., Dias, I.R., Rodrigues, E.A.S., Marciano-Junior, E., Branco, S.M.J., Cavalcante, K.P. & Rodder, D. 2009. Diet of *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptodactylidae) from a cacao plantation in southern Bahia, Brazil. *Herpetological Notes*, 2, 9-15.
- Solé, M. & Rödder, D. 2010. Dietary assessments of adult amphibians. In *Amphibian ecology and conservation: a handbook of techniques* (C.K. Dodd Junior, eds.). Oxford, Oxford University Press, p.167-184.
- Toledo, L.F., Ribeiro, R.S. & Haddad, C.F.B. 2007. Anurans as prey: an exploratory analysis and size relationships between predators and their prey. *Journal of Zoology*, 271, 170-177.
- Toledo, L. F. 2009. Anfíbios como Bioindicadores. In: Neumann-Leitão, S. & El-Dier, S. (Orgs.) *Bioindicadores da Qualidade Ambiental*. Recife: Instituto Brasileiro Pró-Cidadania. pp. 196-208.
- Van Sluys, M. & Rocha, C.F.D. 1998. Feeding habits and microhabitat utilization by two syntopic brazilian amazonian frogs (*Hyla minuta* and *Pseudopaludicola* sp. (gr. *falcipes*). *Revista Brasileira de Biologia*, 58, 4
- Wells, K.D. 2007. *The Ecology & Behavior of Amphibians*. Chicago and London: The University of Chicago Press, pp.1148.
- Young, B.E., Stuart, S.N., Chanson, J.S., Cox, N.A. & Boucher, T.M. 2004. *Disappearing jewels: The status of NewWorld amphibians*. NatureServe, Arlington.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, o ciclo reprodutivo de *Dendropsophus minutus* foi caracterizado como contínuo, com produção de espermatozoides ao longo de todo o ano e maior atividade reprodutiva nos meses mais quentes. Referente à alimentação, a espécie foi caracterizada como oportunista, com dieta composta exclusivamente por artrópodes com o predomínio dos *taxa* Araneae, Diptera e Lepidoptera.

A espécie *D. minutus* tem uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todo o Brasil, ocupando mais de uma sub-região do Bioma Mata Atlântica. Como o referido bioma é formado por diferentes sub-regiões, com características ambientais distintas, tais como vegetação e clima, há de ser considerado que os processos reprodutivos e alimentar, por serem intimamente relacionados aos fatores abióticos, possam ser distintos nas diferentes regiões.

De acordo com as características específicas de cada sub-região da Mata Atlântica, podemos inferir que a estrutura das várias comunidades e suas relações interespecíficas tende a ser diferentes, influenciando na qualidade (*taxa*) e na quantidade dos recursos alimentares disponíveis. Assim, os resultados obtidos no presente estudo podem não corresponder a outros trabalhos realizados com *D. minutus* em outras sub-regiões e salientamos a importância e a necessidade de estudos nas diferentes sub-regiões do referido bioma, a fim de subsidiar planos de manejo e conservação da espécie em toda a extensão da Mata Atlântica.