



**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

# Conteúdo

Agradecimentos.....	4
Resumo geral.....	6
Introdução .....	8
O Gênero <i>Physalaemus</i> .....	10
A espécie <i>Physalaemus spiniger</i> .....	12
Referências.....	15
Informações editoriais.....	28
Capítulo 1 - <i>Physalaemus spiniger</i> (Anura: Leiuperidae): uma rãzinha com repertório vocal acrobático .....	30
Abstract .....	31
Resumo.....	32
Introdução.....	33
Métodos .....	35
Área de estudo .....	35
Resultados .....	38
Canto de anúncio (Ca).....	39
Canto territorial (Ct).....	40
Canto de briga (Cb).....	41
Canto de soltura (Cs).....	41
Canto de Amplexo (Cp) .....	42
Grito de agonia.....	42
Comparação entre as notas .....	42
Resultados de Correlação.....	43
Combinação de notas em cantos compostos .....	44
Discussão .....	44
Referências.....	52

Legenda das Figuras .....	64
Capítulo 2 - Variação morfológica de populações de <i>Physalaemus spiniger</i> (Anura, Leiuperidae) .....	68
Abstract .....	69
Resumo.....	70
Introdução .....	72
Material e Métodos.....	75
Amostra .....	75
Populações selecionadas.....	76
Análise estatística.....	77
Resultados .....	78
Verificação da acurácia da medição .....	78
Análise das variáveis morfológicas.....	78
Análise dos fatores climáticos .....	80
Discussão .....	82
Referências.....	86
Gould, S.J. & R.F. Johnston. 1972. Geographic variation. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 3:457-498. ....	88
Legenda das figuras:.....	97
Anexo I.....	106
Capítulo 3 - Biologia reprodutiva de <i>Physalaemus spiniger</i> (Anura, Leiuperidae), com a descrição de uma adaptação de um dos modos reprodutivos. ....	107
Abstract .....	108
Material e Métodos.....	111
Área de estudo .....	111
Observações em campo .....	112
Observações comportamentais em laboratório .....	114
Análise estatística.....	114
Resultados .....	114
Dimorfismo sexual.....	114
Atividade de vocalização .....	115
Corte.....	116
Desova .....	116

Sucesso reprodutivo.....	119
Discussão.....	120
Dimorfismo sexual.....	120
Atividade de vocalização.....	121
Corte.....	123
Desova.....	124
Sucesso reprodutivo.....	127
Conclusões.....	127
Referências.....	128
Legenda das figuras.....	137
Conclusões gerais.....	144

## 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 **Resumo geral**

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, o turno de vocalização, o padrão temporal da  
44 atividade de reprodução e o modo reprodutivo das espécies. Podem abordar ainda os  
45 diversos tipos de vocalizações e seus contextos de emissão, a influência sofrida devido a  
46 fatores abióticos e podem envolver a descrição de comportamentos sociais além de  
47 abordar fatores quantitativos relativos as relações de fecundidade e identificar fatores  
48 que tenham efeito sobre a seleção sexual. Estudamos a espécie *Physalaemus spiniger*,  
49 na região de Guaraqueçaba, Paraná. A espécie pertence ao grupo *P. signifer* com outras  
50 13 espécies e poucas delas são conhecidas extensamente quanto aos seus aspectos  
51 reprodutivos ou acústicos. *Physalaemus spiniger* apresenta distribuição não muito  
52 extensa, porém suas populações são diferentes entre si quanto à morfologia externa. As  
53 características morfológicas variam conforme o gradiente latitudinal e esta variação não  
54 está relacionada nem à distância geográfica nem às características ambientais. As  
55 maiores diferenças foram observadas na morfologia da cabeça das populações e  
56 sugerimos que a ecologia alimentar possa ser um fator que está promovendo a variação  
57 morfológica. *Physalaemus spiniger* possui comportamentos complexos e uma ampla  
58 variedade na emissão de cantos. Destaca-se tanto dentro do grupo de espécies, quanto  
59 do gênero, da família ou mesmo dentro da ordem Anura. Possui pelo menos cinco  
60 cantos distintos (anúncio, territorial, briga, soltura e corte), sendo a espécie de  
61 *Physalaemus* com maior repertório conhecido até o momento. Ademais, foram  
62 reconhecidas até 22 variações do canto de anúncio, fato inédito para toda a família. O  
63 estímulo ambiental que regula a atividade vocal e de reprodução é a chuva e a presença

64 de poças e a espécie pode vocalizar mesmo durante o dia, apesar de apresentar hábito  
65 predominantemente noturno. A espécie coloniza as áreas no começo da estação das  
66 chuvas e as fêmeas apresentam ovogênese assíncrona, que as permite realizar mais de  
67 uma desova durante a estação reprodutiva, com mais de um macho e em mais de um  
68 local, como uma forma de garantir a reprodução em ambientes imprevisíveis. Apresenta  
69 plasticidade ainda quanto aos modos reprodutivos, sendo a espécie com mais modos  
70 reprodutivos na família Leiuperidae (três modos). O sistema de corte é complexo, com  
71 atividades acústicas e táteis. O sucesso de fecundação dos ovos é sempre alto. Tais  
72 características podem fornecer a espécie uma grande adaptação ao ambiente e um  
73 grande sucesso reprodutivo e toda a plasticidade reprodutiva da espécie pode facilitar  
74 sua adaptação a mudanças ambientais.

75           Palavras chave: acústica, canto de anúncio, corte, reprodução, morfometria,  
76 variação morfológica, vocalização.

## 1 Abstract

2           The study of the reproductive biology of amphibians includes all aspects associated with the  
3 activity of reproduction. May involve, for example, knowledge of the reproductive season, turn of  
4 vocalization, the temporal pattern of reproduction and reproductive mode of species. They may also  
5 address types of vocalizations and their emission context, the influence to abiotic factors and may involve  
6 the description of social behavior and to discuss quantitative factors concerning the relationship of  
7 fertility and to identify factors that have an effect on sexual selection. We studied the species  
8 *Physalaemus spiniger* in the region of Guaraqueçaba, Paraná. Belongs to the *P. signifer* group with 13  
9 other species and few are widely known about their reproductive features or acoustic features.  
10 *Physalaemus spiniger* distribution not very extensive, but their populations are different on the external  
11 morphology. The morphological features vary according to the latitudinal gradient and this variation is  
12 not related neither to the geographical distance or environmental characteristics. The greatest differences  
13 were observed in the head morphology of the populations and suggest that the feeding ecology may be a  
14 factor that is promoting the morphological variation. *Physalaemus spiniger* have complex behaviors and a  
15 wide variety of calls. Stands out both within the species' group, genus, family or even within the order  
16 Anura. Has at least five distinct calls (advertisement, territorial, fight, release and amplex), and the  
17 species of *Physalaemus* greater repertoire known so far. Moreover, variations have been recognized by 22  
18 of the advertisement call, a first for the whole family. The environmental stimulus that regulates the  
19 activity and vocal reproduction is the presence of rain and the puddles and the species can vocalize even  
20 during the day, despite a predominantly nocturnal habit. The species colonizes areas at the beginning of  
21 the rainy season and the females have asynchronous oogenesis. The asynchronous oogenesis allow them  
22 more than one spawning during the breeding season, with more than one male and more than one place,  
23 as a way to ensure reproduction in unpredictable environments. Is the species with more reproductive  
24 modes in Leiuperidae (three modes). The court is complex, with acoustic and tactile activities. The  
25 fertilization success is high. Such features can provide a large adaptation to the environment and a large  
26 reproductive success. And all the reproductive plasticity of the species may facilitate their adaptation to  
27 environmental changes.

28           Key words: acoustic, advertisement call, court, reproduction, morfometric,  
29 morphological variation, vocalization.

## 1 **Introdução**

2 O estudo da biologia reprodutiva de anfíbios anuros compreende todos os  
3 aspectos associados com a atividade de reprodução. Podem envolver, por exemplo, o  
4 conhecimento da temporada reprodutiva (Bernarde & Machado 2001; Wogel et al.  
5 2002; Toledo et al. 2003; De-Carvalho et al. 2008), o turno de vocalização (Cardoso &  
6 Martins 1987; De-Carvalho et al. 2008), o padrão temporal da atividade de reprodução  
7 (Pombal & Haddad 2005) e o modo reprodutivo das espécies (Pombal & Haddad 2005;  
8 De-Carvalho et al. 2008). Podem abordar ainda os diversos tipos de vocalizações e seus  
9 contextos de emissão (Bastos et al. 2003; Lingnau & Bastos 2003; Lingnau et al. 2004;  
10 Costa et al. 2006; Lingnau & Bastos 2007), a influência sofrida devido a fatores  
11 abióticos (Navas & Bevier 2001; Bastos et al. 2003; Lingnau et al. 2004) e podem  
12 envolver a descrição de comportamentos sociais como: corte (Costa et al. 2006), briga  
13 (Toledo & Haddad 2005a), formação de casais (Costa et al. 2006), postura de ovos  
14 (Costa et al. 2006) e características morfológicas das diferentes fases da vida (Buskirk  
15 2000; Leips et al. 2000; Nomura et al. 2003). Além disso, podem ser abordados também  
16 fatores quantitativos relativos as relações de fecundidade (Pombal & Haddad 2005,  
17 Camargo et al. 2008) e identificar fatores que tenham efeito sobre a seleção sexual  
18 (Monnet & Cherry 2002; Byrne 2004).

19 O período de atividade pode variar entre espécies diurnas (Costa et al. 2006;  
20 Hartmann et al. 2006; Lingnau & Bastos 2007) e noturnas (Guimarães & Bastos 2003,  
21 Lingnau et al. 2004; Brasileiro & Martins 2006). A temporada reprodutiva é nas épocas  
22 mais quentes e úmidas para a maioria das espécies brasileiras (Wogel et al. 2002;  
23 Giaretta & Menin 2004) e padrões temporais de comportamento reprodutivo podem ser  
24 em um gradiente que varia de: prolongado, quando se estende por várias semanas; a  
25 explosivo, quando se estende por poucos dias (Wells 1977), e em geral possui

26 características comportamentais associadas como um número grande de casais  
27 simultaneamente em amplexo, machos em procura ativa por fêmeas e vocalizações  
28 sobrepostas (Pombal & Haddad 2005). Ou pode ser contínuo onde se tem fêmeas com  
29 ovos, desovas e girinos o ano todo, oportunistas onde a espécie entra em atividade  
30 reprodutiva dependendo das condições ambientais, ou esporádicas, quando estão em  
31 atividade ocasionalmente (Crump 1974).

32 Os modos reprodutivos descritos para espécies de anuros são muitos e levam em  
33 consideração fatores como: características da desova (e.g., se em ninho de espuma ou se  
34 livre na água); local de deposição dos ovos (e.g., se no solo, na água, em tocas  
35 subterrâneas); características do girino (se endotrófico ou exotróficos); local de  
36 desenvolvimento do girino (e.g., em ambiente lântico ou lótico) e cuidado parental,  
37 quando este se faz presente (Haddad & Prado 2005, Salthe & Duellman 1973).

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

46 A grande variedade comportamental exibida pelas diferentes espécies de anuros  
47 pode envolver complexas comunicações vocais, visuais, químicas e táteis (Ryan 1985b;  
48 Haddad & Sawaya 2000; Giaretta & Kokubum 2004; Lucas et al. 2008; Kokubum &  
49 Souza 2008). A descrição de comportamentos sociais como corte (Costa et al. 2006),  
50 briga (Toledo & Haddad 2005b), formação de casais (Costa et al. 2006), postura de

51 ovos (Costa et al. 2006) e cuidado dos pais com a prole (Jungfer & Weygoldt 1999;  
52 Gibson & Buley 2004, Santos & Amorim 2006) não são incomuns, mas ainda estão  
53 longe de serem conhecidos para todas as espécies.

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

#### 59 O Gênero *Physalaemus*

60 O gênero *Physalaemus*, depois da revisão de Grant et al. (2006), faz parte da  
61 família Leiuperidae, mas já fez parte da família Leptodactylidae, juntamente com  
62 *Eupemphix* e *Engystomops*, pequenos leptodactilídeos que habitavam áreas abaixo de  
63 1200 m, desde o sul do México ao norte da Argentina (Lynch, 1970).

64 O gênero *Physalaemus* foi criado por Fitzinger (1826) para uma única espécie,  
65 *P. cuvieri* que foi caracterizada pela presença de dedos delgados. O gênero *Eupemphix*  
66 foi descrito por Steindachner (1863) para as espécies *E. nattereri* e *E. petersi*. Em 1970,  
67 Lynch uniu as espécies do gênero *Engystomops* Jiménez-de-la-Espada, 1872,  
68 *Eupemphix* Steindachner, 1863 e *Physalaemus* Fitzinger, 1826 em um único gênero  
69 *Physalaemus* e reconheceu quatro grupos de espécies. A composição destes grupos  
70 foram discutidas quanto a sua filogenia por diversos autores (Heyer 1974; 1975;  
71 Canatella & Duellman 1984; Canatella et al. 1998; Tárano & Ryan 2002), inclusive com  
72 o uso de aloenzimas (Canatella et al. 1998) e sugeriram que o gênero possuía dois  
73 grupos monofiléticos: o grupo *Physalaemus pustulosus* e as demais espécies. Desde a

74 divisão proposta por Lynch (1970) muitas espécies foram descritas e alocadas em um  
75 desses grupos (Nascimento et al. 2005).

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

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

86 Desde 2005 quatro novas espécies de *Physalaemus* foram descritas.  
87 *Physalaemus insperatus* Cruz, Cassini, & Caramaschi, 2008 que pertence ao grupo *P.*  
88 *olfersii* e *P. angrensis* Weber, Gonzaga & Carvalho e Silva 2005 (Weber et al. 2005), *P.*  
89 *camacan* Pimenta, Cruz, & Silvano 2005 (Pimenta et al. 2005) e *P. irroratus* Cruz,  
90 Nascimento & Feio 2007 (Cruz et al. 2007) que fazem parte do grupo *P. signifer*. Este  
91 grupo aumentou seu número de 10 (Nascimento et al. 2005) para 13 espécies (Tabela 1)  
92 (Nascimento et al. 2005; Pimenta et al. 2005; Weber et al. 2005; Cruz et al. 2007).

93

94 Tabela 1 – lista das espécies do grupo *Physalaemus spiniger* (*sensu* Nascimento et al.  
95 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)

96

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

104 A espécie *Physalaemus spiniger*

105 A espécie *Physalaemus spiniger* (Miranda Ribeiro 1926) pertence ao grupo *P.*  
106 *signifer*. Foi descrita em 1926 por Miranda-Ribeiro sob o nome de *Engystomops*  
107 *spinigera*, na localidade de Iguape, São Paulo. Foi re-descrita por Haddad e Pombal  
108 (1998), os quais reconhecem e descrevem três modos reprodutivos para a espécie: modo  
109 11 (Haddad & Prado 2005) que consiste em ninhos de espuma em poças e girinos

110 exotróficos desenvolvendo nas poças, modo 14 (Haddad & Prado 2005) ninho de  
111 espuma em água acumulada nas axilas das bromélias terrestres com girinos se  
112 desenvolvendo nas poças e o modo 28 (Haddad & Prado 2005), ninho de espuma em  
113 locais úmidos no chão da floresta, próximo a poça e girinos se desenvolvendo nas poças  
114 (Haddad & Prado 2005).

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

118 A maioria das espécies do gênero *Physalaemus* apresenta a temporada  
119 reprodutiva durante a estação úmida e quente (e.g Bokermann 1962; 1967; Cardoso  
120 1981; Caramaschi et al. 1991; Barreto & Andrade 1995; Feio et al. 1999; Wogel et al.  
121 2002, Giaretta & Menin 2004; Haddad & Sazima 2004; Brasileiro & Martins 2006),  
122 porém, algumas espécies reproduzem no final da estação das chuvas (Maneyro et al.  
123 2008). Para a maioria das espécies do gênero é registrada atividade noturna (e.g  
124 Bokermann 1962; 1967; Cardoso 1981; Caramaschi et al. 1991; Barreto & Andrade  
125 1995; Feio et al. 1999; Wogel et al. 2002; Giaretta & Menin 2004; Brasileiro & Martins  
126 2006) exceto *P. albonotatus* (C. P. A. Prado, dados não publicados) e *P. riograndensis*  
127 que foi registrada vocalizando durante o dia (Barrio 1965) e a reprodução é prolongada  
128 (Barrio 1965; Wogel et al 2002; Camargo et al 2005; Brasileiro & Martins 2006). Os  
129 modos reprodutivos que ocorrem no gênero são 11, 14 e 28 (Haddad & Prado 2005),  
130 sendo o modo 11 (ninho de espuma na água, ancorados na vegetação) o mais comum  
131 entre as espécies (*P. albonotatus*, *P. atlanticus*, *P. caeté*, *P. centralis*, *P. cuvieri*, *P.*  
132 *fernandezae*, *P. gracilis* *P. henseli*, *P. petersi*, *P. rupestris* e *P. signifer*) (Bokermann  
133 1966, Pombal e Madureira 1997, Haddad & Pombal 1998, Haddad & Sazima 2004,  
134 Brasileiro e Martins 2006). A espécie com maior variedade de modos reprodutivos é

135 *Physalameus spiniger* que apresenta três modos reprodutivos, porém não é incomum  
136 que as espécies apresentem modos reprodutivos alternativos [e.g. *P. atlanticus* que  
137 apresenta também a desova no folhiço úmido próximo a poças (Haddad & Sazima  
138 2004) (modo 28); *P. caete* que apresenta também as desovas em buracos de árvores  
139 próximos ao chão (Pombal & Madureira 1997) (variação do modo 14); *P. erythros* que  
140 apresenta desovas em fendas de rochas (Baeta et al. 2007) (variação do modo 14)].

141 Certamente a espécie mais estudada da família Leiuperidae é *Engystomops*  
142 *pustulosus* para a qual são conhecidos a vocalização (seus tipos, variações e  
143 influencias), o comportamento de corte e formação de casais, os fatores de seleção  
144 sexual, o comportamento da desova, o modo reprodutivo, os fatores de seleção sexual, o  
145 comportamento de corte e de briga (Drewry et al.1982; Ryan 1983,1985a; Ryan & Rand  
146 1990; Sun et al. 1995; Cannatella et al., 1998; Ryan & Rand, 1999; Bosch et al. 2000;  
147 Dillon & Fiaño 2000; Marsh 2001;Marsh et al. 2001; Wilczynski et al. 2001;Gridi-Papp  
148 et al. 2006; Lynch et al. 2006; Prohl et al. 2006; Ron et al. 2006; Bernal et al. 2007;  
149 Ryan et al. 2007; Cummings et al. 2008).

150 Para algumas outras espécies da família há um conhecimento significativo sobre  
151 a biologia reprodutiva de forma geral [*P. centralis* (Brasileiro & Martins 2006); *P.*  
152 *signifer* (Wogel et al. 2002); *P. atlanticus* (Haddad & Sazima 2004), *P. cuvieri* (Barreto  
153 & Andrade 1995); *P. cf. marmoratus* (Giaretta & Menin 2004)], aspectos da  
154 vocalização (Funk et al. 2005, Bionda et al. 2006), seleção sexual (Tárano & Herrera  
155 2003) e esforço reprodutivo (Camargo et al. 2008). Porém, para a grande maioria das  
156 espécies o conhecimento ainda é incipiente.

157 O objetivo do presente estudo é obter informações sobre a biologia de *P.*  
158 *spiniger*, enfocando principalmente o aspecto acústico, com a caracterização do  
159 repertório da espécie e dos fatores que influenciam nas vocalizações; os aspectos

160 morfológicos, com a caracterização morfológica da população de *P. spiniger* residente  
161 na Reserva Natural Salto Morato, Município de Guaraqueçaba, Paraná, em comparação  
162 com demais populações desta espécie; e aspectos reprodutivos, com a caracterização da  
163 deposição dos ovos e da desova, dos ovos e do sucesso de fertilização, além da  
164 descrição da corte, amplexo e desova.

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

## 171 Referências

- 172 Ab'Saber, A. N. 1977. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. Primeira  
173 aproximação. *Geomorfologia* 52:1-23.
- 174 Baêta, D., Lourenço, A. C., & Nascimento, L. B. 2007. The tadpole and advertisement  
175 call of *Physalaemus erythros* Caramaschi, Feio & Guimaraes-Neto, 2003  
176 (Amphibia, Anura, Leiuperidae). *Zootaxa* 1623: 39-46.
- 177 Barreto, L. & Andrade, G. V. 1995. Aspects of the reproductive biology of  
178 *Physalaemus cuvieri* (Anura: Leptodactylidae) in northeastern Brazil. *Amphibia-*  
179 *Reptilia* 16 (1): 67-76
- 180 Barrio, A. 1965. El género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina.  
181 *Physis* 25: 421-448.

- 182 Bastos, R. P. & Haddad, C. F. B. 2001. Larvas de *Scinax rizibilis* (Bokermann) (Anura,  
183 Hylidae): avaliando o efeito parental. Revista Brasileira de Zoologia 18: 1127-  
184 1133.
- 185 Bastos, R. P. & Haddad, C. F. B. 2002. Acoustic and aggressive interactions in *Scinax*  
186 *rizibilis* (Anura: Hylidae) during the reproductive activity in southeastern Brazil.  
187 Amphibia-Reptilia 23: 97-104.
- 188 Bastos, R. P., Bueno, M. A. F., Dutra S. L. & Lima, L. P. 2003. Padrões de vocalização  
189 de anúncio em cinco espécies de Hylidae (Amphibia: Anura) do Brasil Central.  
190 Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Série Zoologia  
191 16: 39-51.
- 192 Bernal, X. E., Rand, S. A., & Ryan, M. J. 2007. Sexual Differences in the Behavioral  
193 Response of Túngara Frogs, *Physalaemus pustulosus*, to Cues Associated with  
194 Increased Predation Risk. Ethology 113 (8): 755-763.
- 195 Bernarde, P. S. & Machado, R. A. 2001. Riqueza de espécies, ambientes de reprodução  
196 e temporada de vocalização da anurofauna em Três Barras do Paraná, Brasil  
197 (Amphibia: Anura). Cuadernos de Herpetología 14: 93–104.
- 198 Bionda, C., Salas, N., & Tada, I. 2006. Variación bioacústica en poblaciones de  
199 *Physalaemus biligonigerus* (Anura: Leptodactylidae) em Córdoba, Argentina.  
200 Revista Española de Herpetología 20: 95-104.
- 201 Bokermann, W. C. 1962. Observações Biológicas sobre “*Physalaemus cuvieri*”  
202 Fitz, 1826 (Amphibia, Salientia). Revista Brasileira de Biologia 22 (4): 391-339.

- 203 Bokermann, W. C. 1967. Três novas espécie de "*Physalaemus*" do sudeste Brasileiro.  
204 Revista Brasileira de Biologia 27 (2): 135-143.
- 205 Bosch, J., Rand, A. S. & Ryan, M. J. 2000. Acoustic competition in *Physalaemus*  
206 *pustulosus*, a differential response to calls of relative frequency. Ethology 106:  
207 865-871.
- 208 Brasileiro, C. A. & Martins, M. 2006. Breeding biology of *Physalaemus centralis*  
209 Bokermann, 1962 (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil. Journal of  
210 Natural History 40 (17-18): 1199-1209.
- 211 Brenowitz, E. A. & Rose, G. J. 1999. Female choice and plasticity of male calling  
212 behaviour in the pacific treefrog. Animal Behaviour 57: 1337-1342.
- 213 Buskirk, J. V. 2000. The Costs of an Inducible Defense in Anuran Larvae. Ecology 81  
214 (10): 2813-2821.
- 215 Byrne, P. G. 2004 Intrasexual selection and group spawning in quacking frogs (*Crinia*  
216 *georgiana*). Behavioral Ecology 15 (5): 872-882.
- 217 Camargo, A., Naya, D. E., Canavero, A., Rosa, I. & Maneyro, R. 2005. Seasonal  
218 activity and the body size–fecundity relationship in a population of *Physalaemus*  
219 *gracilis* (Boulenger, 1883)(Anura, Leptodactylidae) from Uruguay. Annales  
220 Zoologici Fennici 42: 513-521.
- 221 Camargo, A., Sarroca, M., & Maneyro, R. 2008. Reproductive effort and the egg  
222 number vs. size trade-off in *Physalaemus* frogs (Anura: Leiuperidae). Acta  
223 Oecologica 34 (2): 163-171.

- 224 Canatella, D. C. & Duellman, W. E. 1984. Leptodactylid frogs of the genus  
225 *Physalaemus pustulosus* group. Copeia 1984 (4): 902-921.
- 226 Cannatella, D. C., Hillis, D., Chippindale, P. T., Weigt, L., Rand, A. S., Ryan, M. J.,  
227 1998. Phylogeny of Frogs of the *Physalaemus pustulosus* Species Group With  
228 an Examination of Data Incongruence. Systematic Biology 47 (2): 311-335.
- 229 Cardoso, A. J. 1981. Biologia e sobrevivência de *Physalaemus cuvieri* (Fitz.) 1826  
230 (Amphibia, Anura) na natureza. Ciência e Cultura 33: 1224-1228.
- 231 Cardoso, A. J. & Martins J. E. (1987) Diversidade de anuros durante o turno de  
232 vocalizações, em comunidade neotropical. Papéis avulsos de Zoologia, São  
233 Paulo 36 (23): 270-285.
- 234 Caramaschi, U., Carcerelli, L. C. & Feio, R. N. 1991. A new species of *Physalaemus*  
235 (Anura: Leptodactylidae) from Minas Gerais, Southeastern Brasil. Herpetologica  
236 47 (2): 148-151.
- 237 Costa, R. C. Facure, K. G. & A. A. Giaretta 2006. Vocalização e descrição do girino de  
238 *Epipedobates flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) no sul de Goiás. Biota  
239 Neotropica 6(1) Disponível em:  
240 <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?article+bn00506012006> .  
241 ISSN 1676-061
- 242 Crump, M. L. 1974. Reproductive strategies in a tropical anuran community.  
243 Miscellaneous Publications of the Museum of Natural History of the University  
244 of Kansas 61: 1-68.

- 245 Cruz, C. A. G., Nascimento, L. B. & Feio, R. N. 2007. A new species of the genus  
246 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leiuperidae) from Southeastern Brazil.  
247 *Amphibia- Reptilia* 28: 457-465.
- 248 Cummings, M. E., Bernal, X. E., Reynaga, R., Rand, a. S., & Ryan, M. J. 2008. Visual  
249 sensitivity to a conspicuous male cue varies by reproductive state in  
250 *Physalaemus pustulosus* females. *The Journal of Experimental Biology* 211 (8):  
251 1203-10.
- 252 De-Carvalho, C. B., Freitas, E. B., Faria, R. B., Batista, R. C., Batista, C.C., Coelho, W.  
253 A. & Bocchiglieri, A. 2008. História natural de *Leptodactylus mystacinus* e  
254 *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) no Cerrado do Brasil Central.  
255 *Biota Neotropica* 8 (3): 105-115.
- 256 Dillon, M. E. & Fiaño, J. 2000. Oviposition Site Selection by the Túngara Frog  
257 (*Physalaemus pustulosus*). *Copeia* 2000 (3): 883-885.
- 258 Drewry, G. E., Heyer, W. R. & Rand, A. S. 1982. A funcional Analysis of the Complex  
259 Call of the Frog *Physalaemus pustulosus*. *Copeia* 1982 (3): 636-645.
- 260 Duellman, W. E. & Trueb, L. 1994. *Biology of Amphibians*. New York. McGraw-Hill  
261 Book Company. 679p.
- 262 Feio, R. N., Pombal Jr, J. P., & Caramaschi, U. 1999. New *Physalaemus* (Anura:  
263 Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of Minas Gerais. *Copeia* 99: 141-145.
- 264 Frost, D. R. 2002. *Amphibian species of the world: an online reference*. v2.21.  
265 Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>>.

- 266 Funk, W. C., & Angulo, A. 2008. Comparison of morphology and calls of two cryptic  
267 species of *Physalaemus* (Anura: Leiuperidae). *Herpetologica* 64 (3): 290-304.
- 268 Giaretta, A., & Menin, M. 2004. Reproduction, phenology and mortality sources of a  
269 species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Natural History* 38  
270 (13): 1711-1722.
- 271 Giaretta, A. A. & Kokubum, M. N. C. 2004. Reproductive ecology of *Leptodactylus*  
272 *furnarius* Sazima & Bokermann, 1978, a frog that lay eggs in underground  
273 chambers (Anura, Leptodactylidae). *Herpetozoa* 16: 115-126.
- 274 Gibson, R. C & Buley, K. R. 2004. Maternal Care and Obligatory Oophagy in  
275 *Leptodactylus fallax*: A New Reproductive Mode in Frogs. *Copeia* 1: 128-135.
- 276 Grant, T., Frost, D. R., Caldwell, J. P., Gagliardo, R., Haddad, C. F. B., Kok, P. J. R.,  
277 Means, B. D., Noonan, B. P., Schargel, W., & Wheeler, W. C. 2006.  
278 Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Anura:  
279 Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural*  
280 *History* 299: 184-203.
- 281 Gridi-Papp, M., Rand, A., & Ryan, M. J. 2006. Complex call production in the túngara  
282 frog. *Nature* 441: 441038-441038.
- 283 Guimarães, D. L. & Bastos, R. P. 2003. Vocalizações e interações acústicas em *Hyla*  
284 *raniceps* (Anura: Hylidae) durante a atividade reprodutiva. *Iheringia* 93 (2): 149-  
285 158.
- 286 Haddad C. F. B. & Cardoso A. J. 1992. Female choice in *Hyla minuta* (Amphibia:  
287 Anura). *Acta Zoologica Lilloana* 41: 81-91.

- 288 Haddad, C. F. B. & Giaretta, A. A. 1999. Visual and acoustic communication in the  
289 Brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura; Leptodactylidae) *Herpetologica* 55  
290 (3): 324-333.
- 291 Haddad, C. F. B. & Pombal Jr, J. P. 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger*  
292 (Anura:Leptodactylidae) and Description of two new reproductive modes.  
293 *Journal of Herpetology* 32 (4): 557-565.
- 294 Haddad, C. F. B., & Prado, C. P. A. 2005. Reproductive modes in frogs and their  
295 unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *BioScience* 55 (3): 207-217.
- 296 Haddad, C. F. B & Sazima, I. 2004. A new species of *Physalaemus* (Amphibia:  
297 Leptodactylidae) from the Atlantic forest in southeastern Brazil. *Zootaxa* 12:  
298 5326-5326.
- 299 Haddad, C. F. B. & Sawaya, R. J. 2000. Reproductive Modes of Atlantic Forest Hylid  
300 Frogs: A General Overview and the Description of a New Mode *Biotropica* 32  
301 (4b): 862–871.
- 302 Hartmann, M. T., Hartmann, P. A. & Haddad C. F. B. 2006 Repertório vocal de  
303 *Hylodes phyllodes* (Amphibia, Anura, Hylodidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*  
304 46 (17): 203-209.
- 305 Heyer, W. R. 1974. Relationships of the *marmoratus* species group (Amphibia,  
306 Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. *Natural History*  
307 *Museum of Los Angeles County Contributions in Science* 253: 1-46.
- 308 Heyer, W. R. 1975. A preliminary analysis of the intrageneric relationships of the frog  
309 family Leptodactylidae. *Smithsonian Contributions to Zoology* 199: 1-55.

- 310 Jungfer, K. H. & Weygoldt, P. 1999. Biparental care in the tadpole-feeding Amazonian  
311 treefrog *Osteocephalus oophagus*. *Amphibia-Reptilia* 20: 235-249.
- 312 Kokubum, M. N. C. & Souza, M. B. 2008. Reproductive ecology of *Leptodactylus* aff  
313 *hylaedactylus* (Anura, Leptodactylidae) from an open area in Northern Brazil.  
314 *South American Journal of Herpetology* 3: 15–21.
- 315 Leips, J., McManus, M.G. & Travis, J. 2000. Response of Treefrog Larvae to Drying  
316 Ponds: Comparing Temporary and Permanent Pond Breeders. *Ecologia* 81 (11):  
317 2997-3008.
- 318 Lingnau, R. & Bastos, R. P. 2003. Vocalizações de duas espécies de anuros do sul do  
319 Brasil (Amphibia hylidae). *Arquivos do Museu Nacional* 61 (3): 203-207.
- 320 Lingnau, R. & Bastos, R. P. 2007. Vocalizations of the brasilian torrent frog *Hylodes*  
321 *heyeri* (Anura:Hylodidae): Repertorie and influence of air temperature on  
322 advertisement call variation. *Journal of Natural Hystory* 41 (17-20): 1227-1235
- 323 Lingnau, R., Guimarães L. D. & Bastos R. P. 2004. Vocalizações de *Hyla werneri*  
324 (Anura, Hylidae) no sul do Brasil. *Phyllomedusa* 3 (2): 115-120.
- 325 Lucas, E. M., Brasileiro, C. A., Oyamaguchia, H. M. & Martins, M. 2008. The  
326 reproductive ecology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae): new  
327 data from natural temporary ponds in the Brazilian Cerrado and a review  
328 throughout its distribution. *Journal of Natural History* 42 (35–36): 2305–2320.
- 329 Lynch, J. D. 1970. Systematic status of the American leptodactylid frog genera  
330 *Engystomops*, *Eupemphix*, and *Physalaemus*. *Copeia* 3: 488-496.

- 331 Lynch, K. S., Crews, D., Ryan, M. J., & Wilczynski, W. 2006. Hormonal state  
332 influences aspects of female mate choice in the Túngara Frog (*Physalaemus*  
333 *pustulosus*). *Hormones and behavior* 49 (4): 450-457.
- 334 Maneyro, R., Núñez, D., Borteiro, C., Tedros, M., & Kolene, F. 2008. Advertisement  
335 call and female sexual cycle in Uruguayan populations of *Physalaemus henselii*  
336 (Anura, Leiuperidae). *Iheringia* 98 (2): 210-214.
- 337 Marcelino, V., Haddad, C. F. B. & Alexandrino, J. 2009 Geographic Distribution and  
338 Morphological Variation of Striped and Non-Striped Populations of the  
339 Brazilian Atlantic Forest Treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). *Journal*  
340 *of Herpetology* 43 (2): 351-361.
- 341 Marsh, D. M. 2001. Behavioral and demographic responses of Túngara frogs to  
342 variation in pond density. *Ecology* 82 (5): 1283-1292.
- 343 Marsh, D. M., Fegraus, E. H., & Harrison, S. 1999. Effects of breeding pond isolation  
344 on the spatial and temporal dynamics of pond use by the tungara frog  
345 *Physalaemus pustulosus*. *Journal of Animal Ecology* 68: 804-814.
- 346 Martins, M. 1998. Biología reproductiva de *Leptodactylus fuscus* em Boa Vista, Roraima  
347 (Amphibia: Anura). *Revista Brasileira de Biologia* 48 (4): 969-977.
- 348 Monnet, J. & Cherry, M. I. 2002. Sexual size dimorphism in anurans. *Proceedings of*  
349 *the Royal Society B* 269 (1507): 2301-2307
- 350 Nascimento, L. B., Caramaschi, U., & Cruz, C. A. G. 2005. Taxonomic review of the  
351 species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with the revalidation  
352 of the genera *Engystomops* Jiménez-De La-Espada, 1872 and *Eupemphix*

- 353 Steindachner, 1863 (Amphibia Anura, Leptodactylidae) Arquivos do Museu  
354 Nacional 63 (2): 297-320
- 355 Navas, C. A. & Bevier, C. R. 2001. Thermal dependency of calling performance in the  
356 eurithermic frog *Colostetus subpunctatus*. *Herpetologica* 57: 384-395.
- 357 Nomura, F., Rossa-feres D. C. & Prado, V. H. M. 2003. The tadpole of *Physalaemus*  
358 *fuscumaculatus* (Anura: Leptodactylidae), with a description of internal oral  
359 morphology. *Zootaxa* 8: 1-8.
- 360 Pimenta, B. V., Cruz, C. A. & Silvano, D. L. 2005. A new species of the genus  
361 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain  
362 Forest of southern Bahia, Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26: 201-210.
- 363 Pombal Jr., J. P. & Haddad C. F. B. 2005. Estratégias e modos reprodutivos de anuros  
364 (Amphibia) em uma poça permanente na Serra de Paranapiacaba, Sudeste do  
365 Brasil. *Papéis Avulsos de Zoologia* 45 (15): 201-213.
- 366 Pombal Jr, J. P. & Madureira C. A. 1997. A new species of *Physalaemus* (Anura,  
367 Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest of Northeastern Brazil. *Alytes* 15  
368 (3): 105-112
- 369 Prohl, H., Koshy, R. A., Mueller, U., Rand, A. S. & Ryan, M. J. 2006. Geographic  
370 variation of genetic and behavioral traits in northern and southern túngara frogs.  
371 *Evolution* 60 (8): 1669-1679.
- 372 Ron, S. R., Santos, J. C. & Cannatella, D. C. 2006. Phylogeny of the túngara frog genus  
373 *Engystomops* (= *Physalaemus pustulosus* species group; Anura:  
374 Leptodactylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39 (2): 392-403.

- 375 Ryan, M. J. 1983. Sexual selection and communication in a neotropical frog *Physalaemus*  
376 *pustulosus*. *Evolution* 37 (2): 261-272.
- 377 Ryan, M. J. 1985a. Energetic efficiency of vocalization by the frog *Physalaemus*  
378 *pustulosus*. *Journal of Experimental Biology* 116: 47-52.
- 379 Ryan, M. J. 1985b. The Túngara frog: A Study in a Sexual Selection and  
380 Communication. The University of Chicago Press, Chicago 51p.
- 381 Ryan, M. J. 2001. Anuran Communication. Smithsonian Institution Press, Washington,  
382 London, 252p.
- 383 Ryan, M. J. & Rand, A. S. 1990. The sensory basis of sexual selection for complex calls  
384 in the Túngara frog, *Physalaemus pustulosus* (sexual selection for sensory  
385 exploitation). *Evolution* 44 (2): 305-314.
- 386 Ryan, M. J. & Rand, A. S. 1999. Phylogenetic influence on mating call preferences in  
387 female túngara frogs. *Animal Behaviour* 57: 945-956.
- 388 Ryan, M. J., Bernal, X. E. & Rand, A. S. 2007. Patterns of mating call preferences in  
389 túngara frogs, *Physalaemus pustulosus*. *Journal of Evolutionary Biology* 20 (6):  
390 2235-2247
- 391 Santos, E. M. & Amorim, F. O. 2006. Cuidado parental em *Leptodactylus natalensis*  
392 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Iheringia* 96(4): 491-494
- 393 Salthe, S. N. & Duellman, W. E. 1973. Quantitative constraints associated with  
394 reproductive mode in anuran. Pág 229-249 in Vial J. L. ed *Evolutionary Biology*  
395 of the Anurans. Columbia: University of Missouri Press.

- 396 Schwartz, J. J. 1994. Male advertisement and female choice in frogs: recent findings  
397 and new approaches to the study of communication in a dynamic acoustic  
398 environment. *American Zoologist* 34: 616-624.
- 399 Silva, A. P. Z., Baldissera Jr, F. A., Haddad, C. F. B & Kasahara, S. 2000. Karyotypes  
400 and nucléolos organizer regions in four species of genus *Physalaemus* (Anura,  
401 Leptodactylide). *Iherigia* 88: 159-164
- 402 Sun, L., Wilczynski, W., Rand, A. S. & Ryan, M. J. 1995. Trade-off in short- and long-  
403 distance communication in túngara (*Physalaemus pustulosus*) and cricket (*Acris*  
404 *crepitans*) frogs. *Behavioral Ecology* 11 (1): 102-109.
- 405 Tárano, Z. & Herrera, E. A. 2003. Female Preferences for Call Traits and Male Mating  
406 Success in the Neotropical Frog *Physalaemus eneseftae*. *Ethology* 134: 121-134.
- 407 Tárano, Z. & Ryan, M. J. 2002. No pre-existing biases for heterospecific call traits in  
408 the frog *Physalaemus eneseftae*. *Animal Behaviour* 64: 599-607.
- 409 Toledo, L. F. & Haddad, C. F. B. 2005a. Acoustic repertoire and calling site of *Scinax*  
410 *fuscumarginatus* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* 39 (3): 455-464.
- 411 Toledo, L. F., & Haddad, C. F. B. 2005b Reproductive biology of *Scinax*  
412 *fuscumarginatus* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. *Journal of*  
413 *Herpetology* 39: 3029-3037.
- 414 Toledo, L. F., Zina, J. & Haddad, C. F. B. 2003. Distribuição temporal e espacial de  
415 uma comunidade de anfíbios anuros no município de Rio Claro, São Paulo,  
416 Brasil. *Holos Environment* 3(2): 197-212.

- 417 Toledo, L. F., Araújo, O. G. S., Guimarães, L. D., Lingnau, R. & Haddad, C. F. B.  
418 2007. Visual and acoustic signaling in three species of Brazilian nocturnal tree  
419 frogs (Anura, Hylidae). *Phyllomedusa* 6(1): 61-68.
- 420 Weber, L. N., Gonzaga, L. P., & Carvalho-e-Silva, S. P. 2005. A new species of  
421 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland Atlantic Forest of Rio de Janeiro  
422 state Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional*  
423 63(4): 677-684.
- 424 Wells, K. D. 1977. The Social behavior of anuran amphibians. *Animal Behaviour* 25:  
425 666-693.
- 426 Wilczynski, W., Rand, S. A. & Ryan, M. J. 2001. Evolution of Calls and Auditory  
427 Tuning in the *Physalaemus pustulosus* Species Group. *Brain Behavior and*  
428 *Evolution* 58: 137-151.
- 429 Wogel, H., Abruñhosa, P. A., & Pombal Jr, J. P. 2002. Atividade reprodutiva de  
430 *Physalaemus signifer* (Anura Leptodactylidae) em ambiente temporário.  
431 *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 Anuran vocalizations are generally a conservative characteristic, without much variation  
19 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 embrace calls (Ce). These calls differ in duration, number of  
23 pulses per note, and fundamental frequency (Fh1). The advertisement call presented a  
24 wide variation in the physical structure, having up to six harmonics (Fh) with one to  
25 three being visible and two to three non-visible in the sonogram. The higher intensity  
26 was recorded between the Fh3 (1.27 kHz) and Fh4 (1.68 kHz). The call had an average  
27 of 237.63 ms and an average of 371.57 pulses. 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 the advertisement  
31 call. The function of this variation and of each of the observed patterns is unclear, but it  
32 makes this species an excellent model for testing and remarkable, given that, to our  
33 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 amplexo (Ca).  
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 do canto de  
45    anúncio (A), que apresentou até seis frequências harmônicas (Fh), sendo de uma a três  
46    visíveis e de duas a três não visíveis. A maior intensidade sonora foi registrada entre o  
47    Fh3 (1,27 kHz) e Fh4 (1,68 kHz). A nota teve duração média de 237,63 ms e em média  
48    371,57 pulsos. A nota A pode ocorrer em conjunto com a nota territorial (T), neste caso  
49    alterando suas características físicas. As modulações de frequência nas notas A foram  
50    tanto ascendentes como descendentes e localizadas em qualquer região da nota.  
51    Identificamos pelo menos 22 formas diferentes de emissão do canto de anúncio. A  
52    função desta variação e de cada um dos padrões observados ainda não está clara, mas já  
53    torna esta espécie um excelente modelo para experimentação, visto que, até onde  
54    sabemos, apenas outras duas espécies de anuros também podem realizar tais acrobacias  
55    vocais.

56

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

59

## 60 Introdução

61           Entre os anfíbios anuros a vocalização é o mais difundido e estudado mecanismo  
62 de comunicação (Ryan 2001). A produção de sons é primariamente uma forma de  
63 indicar a presença de um indivíduo a outros da mesma espécie (Duellman & Trueb  
64 1994). Além disso, a vocalização pode ter diversas funções como a atração de parceiros  
65 sexuais (Haddad & Cardoso 1992; Duellman & Trueb 1994; Schwartz 1994; Brenowitz  
66 & Rose 1999; Lingnau et al. 2004) e como mecanismo de isolamento reprodutivo pré-  
67 zigótico (Oldham & Gerhardt 1975; Wells 1977; Etges 1987; Cardoso & Viellard 1990;  
68 Bourne & York 2001). Também faz parte de interações agressivas, relativas à defesa ou  
69 disputa de recursos limitados, como sítios de desova (Martins et al. 1998) e de  
70 vocalização (Wells 1988; Bastos & Haddad 2001; Castellano et al. 2002; Guimarães &  
71 Bastos 2003; Lingnau et al. 2004). Neste contexto, a vocalização pode ser capaz de  
72 definir vencedores em duelos antes mesmo de haver interações físicas (Bastos &  
73 Haddad 2002; Wogel et al. 2002; Toledo & Haddad 2005; Brasileiro & Martins 2006),  
74 as quais podem levar a altos gastos energéticos (Martins et al. 1998), injúrias (Martins et  
75 al. 1998), ou mesmo morte dos indivíduos (Lutz 1960).

76           Algumas espécies de anuros apresentam uma gama ampla de repertório vocal,  
77 emitindo cantos distintos, dependendo do contexto social (Wells 1977; Castellano et al.  
78 2002; Bastos et al. 2003; Guimarães & Bastos 2003; Lingnau & Bastos 2003; Lingnau  
79 et al. 2004; Wogel et al. 2004; Toledo & Haddad 2005; Costa et al. 2006; Hartmann et  
80 al. 2006; Lingnau & Bastos 2007) que pode sofrer influências devido a fatores abióticos  
81 (Navas & Bevier 2001; Guimarães & Bastos 2003; Toledo & Haddad 2005; Lingnau &  
82 Bastos 2007), o tamanho dos agregados reprodutivos (Wagner 1989, Boatright-  
83 Horowitz et al. 2000) e a distância do macho cantor mais próximo (Wagner 1989). Com

84 relação aos fatores abióticos, diversos autores mostraram que as vocalizações podem  
85 sofrer influência da temperatura (Navas & Bevier 2001, Guimarães & Bastos 2003;  
86 Toledo & Haddad 2005; Lingnau & Bastos 2007), podendo alterar a taxa de repetição  
87 do canto (Bastos & Haddad 1995), o número e a duração das notas (Guimarães &  
88 Bastos 2003) e a duração do canto (Lingnau & Bastos 2007).

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

95       O canto de anúncio da maioria das espécies de anuros é constituído de uma nota  
96 única (e.g., *Hylodes heyeri* Haddad, Pombal & Bastos 1996 – Lingnau & Bastos 2007;  
97 *Scinax fuscomarginatus* (Lutz 1925) – Toledo & Haddad 2005), no entanto, algumas  
98 espécies podem apresentar maior complexidade no canto de anúncio (Narins &  
99 Capranica 1978; Ryan & Ryan 1981; Ryan 1983; Narins et al. 2000; Gridi-Papp et al.  
100 2006). Por exemplo, para algumas espécies foram descritas de duas a três notas no canto  
101 de anúncio, como em *Dendropsophus minutus* (Peters 1872) (Haddad & Cardoso,  
102 1992), *Eleutherodactylus coqui* Thomas 1966 (Narins & Capranica 1978) e  
103 *Engystomops pustulosus* Lynch 1970 (Ryan & Ryan 1981; Ryan 1983; Gridi-Papp et al.  
104 2006). Para outras espécies foram observadas desde notas simples até múltiplas, como  
105 em *Polypedates leucomystax* (Gravenhorst 1829) (Christensen-Dalsgaard et al. 2002;  
106 Narins et al. 1998; 2000) e *Smilisca sila* Duellman & Trueb 1966 (Tuttle & Ryan 1982).

107       Para as espécies do grupo *P. signifer* já foram publicados quatro diferentes tipos  
108 de canto. O canto de anúncio é conhecido para 12 das 13 espécies deste grupo (*P.*

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

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

## 125 Métodos

### 126 Área de estudo

127 A área de estudo está inserida na RPPN Reserva Natural Salto Morato (RNSM),  
128 no município de Guaraqueçaba, Paraná, sul do Brasil (25°10'56.61''S a  
129 48°17'51.80''W). Além desta área, foram realizadas observações em uma propriedade  
130 particular vizinha à RNSM (25°11'7.04''S a 48°17'50.91''W). Ambas as áreas  
131 pertencentes à Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba, dentro do bioma Mata  
132 Atlântica em área com Floresta Ombrófila Densa Submontana (FBPN, 2001).

133 O clima é subtropical úmido, os verões são quentes e as geadas pouco frequentes  
134 com uma tendência da concentração das chuvas nos meses de verão (entre dezembro e  
135 fevereiro), no entanto sem uma estação seca bem definida. Os índices pluviométricos  
136 mostram mais de 2000 mm anuais, a umidade relativa do ar média anual é de 85 % e a  
137 temperatura média anual é em torno de 21°C (FBPN, 2001).

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

144 As atividades de campo ocorreram entre os meses de agosto e novembro de 2008  
145 e fevereiro e agosto de 2009. As vocalizações de *P. spiniger* foram gravadas com um  
146 gravador cassete manual (Mega Star TCM 85) e microfone cardióide (Shure 8700), a  
147 uma distância de aproximadamente 50 cm dos machos cantores. As vocalizações foram  
148 gravadas em fita cassete em velocidade normal (4,8 cm/s) e foram registrados a  
149 temperatura do ar e o horário no momento das gravações. Em seguida foram  
150 digitalizadas a 44 kHz e 16 bits de resolução. Foram analisadas pelo software Raven Pro  
151 1.3, sendo que a configuração adotada para análise foi: brilho a 80 %, contraste a 80 % e  
152 512 de FFT. A terminologia usada na descrição segue a apresentada em Toledo &  
153 Haddad (2005) e os cantos podem ser considerados simples (quando formadas por  
154 somente uma nota) ou compostos (quando formadas por duas notas, sem intervalos  
155 entre elas).

156 Harmônicos (Fh) que tem maior intensidade acústica, portanto visíveis no  
157 espectrograma, foram denominados de harmônicos visíveis. Os que possuem baixa

158 intensidade e não visíveis no espectrograma foram denominados de harmônicos não  
159 visíveis. Para a descrição dos parâmetros acústicos, tais como duração da nota, número  
160 de pulsos e frequência dominante foram analisados sempre os harmônicos visíveis.

161 A frequência fundamental e os harmônicos não visíveis foram determinados pela  
162 fórmula:  $F_{hn} = F_{h_1} \cdot n$ , onde  $F_{h_1}$  é a frequência harmônica fundamental e  $n$  um número  
163 inteiro (Tipler 1991). Os parâmetros acústicos são apresentados no formato de média  $\pm$   
164 desvio padrão.

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

170 Quanto à influência de fatores extrínsecos, foram analisadas 109 notas de  
171 anúncio, em seis temperaturas diferentes (16,3°; 17,3; 18; 18,9 e 19,6; 21 °C). Quanto  
172 aos fatores intrínsecos, em relação ao comprimento rostro-cloacal (CRC), foram  
173 analisadas 75 notas de anúncio de seis indivíduos (16,92; 17,24; 17,3; 18,26; 18,45 e  
174 19,25 mm) e com relação à massa, foram analisadas 57 notas de anúncio de cinco  
175 indivíduos (0,42; 0,49; 0,55; 0,70 e 0,77 g).

176 Para análise do canto de briga, foram utilizadas, além das gravações realizadas  
177 em Guaraqueçaba, gravações de uma população no Parque Estadual Ilha do Cardoso, no  
178 estado de São Paulo, onde machos foram coletados em campo e colocados num mesmo  
179 saco plástico, quando iniciaram o comportamento e a vocalização de briga.

180 Para análise de antifonia, foram utilizadas, além das gravações realizadas em  
181 Guaraqueçaba, gravações de uma população na Ilha de Cananéia, Estado de São Paulo.

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

187 Foram realizados testes com 10 indivíduos machos adultos para a emissão de  
188 grito de agonia, segundo protocolo definido por Toledo & Haddad (2009).

189 O canto de amplexo foi observado em situação laboratorial na qual indivíduos  
190 (machos e fêmeas) foram coletados no campo e posteriormente mantidos em terrário em  
191 laboratório onde foram observados. As demais observações foram feitas sem  
192 manipulação.

### 193 Resultados

194 Foram registradas cinco vocalizações diferentes emitidas por *P. spiniger*: canto  
195 de anúncio (Ca), emitido com uma maior frequência quando os indivíduos estavam  
196 isolados ou em coros; canto territorial (Ct), emitido com maior frequência quando havia  
197 machos próximos, mas também emitido quando os machos cantores estavam isolados de  
198 outros machos; canto de briga (Cb), emitido durante combates físicos entre machos;  
199 canto de soltura (Cs), emitido quando os indivíduos foram manipulados, e canto de  
200 amplexo (Cp), emitido quando o macho estava amplexado à fêmea e havia machos  
201 próximos (Figura 1).

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

205 Canto de anúncio (Ca)

206 Foram analisadas 204 notas, de 34 indivíduos diferentes, com uma média de  
207 5,83 (1 – 20) notas analisadas por indivíduo. O canto de anúncio é um canto simples e  
208 foi formado por somente uma nota (Figura 1a). Esta apresentou pelo menos seis  
209 harmônicos, sendo de um a três visíveis e de dois a três não visíveis. A exceção de um  
210 único indivíduo que emitiu até oito harmônicos, sendo até seis não visíveis e de dois a  
211 três visíveis. Apresentou com maior frequência dois (91,89 %) harmônicos não visíveis  
212 e dois (81,98 %) visíveis.

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

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

227 O canto de anúncio apresentou uma grande variação na sua estrutura física. O  
228 total de gravações foi de 24 h 12 e nelas puderam ser identificadas 22 configurações  
229 diferentes (Figura 2). As modulações de frequência observadas na nota A foram tanto

230 ascendentes como descendentes e observadas no terço inicial, médio ou final delas. Um  
231 mesmo indivíduo pode apresentar mais de uma configuração do canto de anúncio e  
232 pode variar a frequência dominante.

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

#### 240 Canto territorial (Ct)

241 Foram analisadas 37 notas territoriais de oito indivíduos, sendo uma média de  
242 3,7 (1 – 11) cantos por indivíduo. O Ct é um canto composto e foi formado por uma (T)  
243 (Figura 1b) ou duas notas (AT ou TA) (Figura 3). A nota T pode apresentar pelo menos  
244 seis harmônicos, sendo de dois (13,51 %) a três (86,49 %) visíveis e de dois (81,08 %) a  
245 três (13,51 %) não visíveis. Em 13,51 % dos casos o terceiro harmônico não foi visível.

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

252 A nota T foi emitida menos vezes isoladamente (30,61 %) que em conjunto com  
253 a nota A (90,39 %) ( $\chi^2 = 19,7$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,05$ ), podendo haver (5,88 %) ou não (94,12  
254 %) um intervalo entre elas.

## 255 Canto de briga (Cb)

256 Foram analisadas 34 notas de quatro indivíduos, sendo uma média de 7,75 (6 –  
257 11) cantos por indivíduo. O Cb é um canto composto formado por uma, duas ou três  
258 notas B (Figura 1c). A nota B pode apresentar pelo menos sete harmônicos, sendo um  
259 (9,68 %), dois (29,03 %) ou três (70,97 %) visíveis e dois (20 %), três (56,67 %) ou  
260 quatro (23,33 %) não visíveis.

261 A duração média da nota foi de  $53,65 \pm 12,95$  ms e apresentou uma média de  
262  $102,09 \pm 42,17$  pulsos por nota. A frequência média da fundamental foi  $0,39 \pm 0,07$   
263 kHz, a frequência dominante média do Fh3 (primeiro visível) foi  $1,42 \pm 0,21$  kHz, do  
264 Fh4 (segundo visível) foi  $1,72 \pm 0,26$  kHz e do Fh5 (terceiro visível)  $1,95 \pm 0,39$  kHz.  
265 Os valores detalhados destes harmônicos e os valores para os demais harmônicos se  
266 encontram na Tabela 1.

## 267 Canto de soltura (Cs)

268 Foram analisadas 18 notas de quatro indivíduos, sendo uma média de 4,5 (1 – 9)  
269 cantos por indivíduo. O Cs é um canto composto formado por uma a três notas S  
270 (Figura 1d). A nota S pode apresentar pelo menos oito harmônicos, sendo dois (16,67  
271 %), três (50 %) ou quatro (33,33 %) visíveis e dois (16,67 %), três (55,56 %), quatro  
272 (22,22 %) ou cinco (5,56 %) não visíveis.

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

276 A duração média da nota S foi de  $23,72 \pm 4,81$  ms e apresentou  $62,05 \pm 17,84$   
277 pulsos por nota. A frequência dominante média da frequência fundamental é de  $0,46 \pm$   
278  $0,05$  kHz. A frequência dominante média do Fh4 (segundo visível) foi de  $1,9 \pm 0,19$

279 kHz e do Fh5 (terceiro visível)  $2,3 \pm 0,27$  kHz. Os valores detalhados destes harmônicos  
280 e os valores para os demais harmônicos se encontram na Tabela 1.

### 281 Canto de Amplexo (Cp)

282 Foram analisados 13 cantos, de dois indivíduos, sendo uma média de 6,5 (3 –  
283 10) cantos por indivíduo. O Cc é um canto simples, formado por uma única nota C  
284 (Figura 1e). A nota C foi emitida quando o macho estava em amplexo com uma fêmea  
285 na presença de outros machos (quando colocados em um terrário). A nota apresentou  
286 pelo menos seis harmônicos, sendo um (63 %), dois (18 %) ou três (18 %) não visíveis e  
287 de cinco a oito visíveis. Na maioria das vezes (80%) o harmônico de maior intensidade  
288 acústica foi o terceiro harmônico visível.

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

### 293 Grito de agonia

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

### 296 Comparação entre as notas

297 Verificou-se que as cinco notas (A, T, B, S e C) diferem quanto a duração  
298 (ANOVA:  $F_{58,21} = 648,2$ ;  $P < 0,05$ ), o número de pulsos por canto (ANOVA:  $F_{70,08} =$   
299  $557,2$ ;  $P < 0,05$ ) e a frequência fundamental (ANOVA:  $F_{43,61} = 77,98$ ;  $P < 0,05$ ). A  
300 comparação das notas, duas a duas, para cada uma das três características analisadas,  
301 pode ser encontrada na tabela 2.

302 A nota A foi mais longa quando seguida pela nota T [ $273,31 \pm 62,78$  ms (145 -  
303 392;  $n = 2$  indiv.;  $n = 8$  notas)] do que quando emitida isoladamente [ $228,76 \pm 64,35$  ms  
304 (141 - 571;  $n = 37$  indiv.;  $n = 189$  notas)] ( $t = 3,75$ ;  $P < 0,05$ ) e possui mais pulsos por  
305 nota quando seguida pela nota T [ $435,14 \pm 97,34$  (243,6 - 618,28;  $n = 35$  indiv.;  $n = 2$   
306 notas)] do que quando sozinha [ $353,08 \pm 104,33$  (214,88 - 752,1;  $n = 37$  indiv.;  $n = 189$   
307 notas)] ( $t = 4,43$ ;  $P < 0,05$ ). A nota A possuiu frequência fundamental maior quando foi  
308 emitida isolada [ $0,43 \pm 0,03$  kHz (0,3 - 0,5; 175; 37)] do que quando seguida por T  
309 [ $0,41 \pm 0,04$  kHz (0,3 - 0,5; 8; 2)] ( $t = 2,14$ ;  $P < 0,05$ ). A nota T, não apresentou  
310 diferença quando emitida isolada ou em sequencia da nota A, para nenhuma das  
311 características analisadas [duração ( $t = -1,88$ ;  $P > 0,05$ ), número de pulsos por nota ( $t = -$   
312  $0,80$ ;  $P > 0,05$ ) e frequência fundamental ( $t = -1,65$ ;  $P > 0,05$ )].

### 313 Resultados de Correlação

314 Os fatores físicos da nota de anúncio que apresentaram correlação com a  
315 temperatura do ar no momento da gravação foram a duração (correlação negativa) e a  
316 frequência dominante do primeiro harmônico visível (correlação positiva). Os demais  
317 fatores (frequência fundamental, frequência dominante e frequência dominante do  
318 segundo harmônico visível) se mostraram independentes.

319 Com relação aos fatores intrínsecos do macho cantor (massa e CRC), a  
320 frequência fundamental mostrou-se independente, a duração da nota apresentou  
321 correlação negativa com relação à massa corpórea, e positiva com relação ao CRC e os  
322 demais fatores (frequência dominante da nota de anúncio, a frequência dominante do  
323 primeiro harmônico visível e do segundo harmônico visível) foram negativamente  
324 correlacionados com os dois fatores (massa e CRC). Os valores das correlações podem  
325 ser encontrados na tabela 3.

326 Combinação de notas em cantos compostos

327 *Physalaemus spiniger* emitiu as notas A, T, B, S e C (Figura 1) e estas podem vir  
328 nas seguintes combinações: Nota A, isolada em 89 % das vezes (N = 233), e junto com  
329 a T em 11 % das vezes (N = 29); Nota T isolada em 6 % das vezes (N = 2) e junto da  
330 nota A em 92 % das vezes (N = 34); Quando a nota A foi emitida junto com a nota T  
331 em 96,87% a nota A precede a nota T (AT) (N = 28) (Figura 3) e em 3,12 % das vezes a  
332 nota T precede a nota A (TA) (N=1); A nota B foi emitida isolada em 28,57% das vezes  
333 (N = 10), em seqüência de duas notas B em 39,29% (N = 13) e em seqüência de três  
334 notas B em 32,14% das vezes (N = 11); e a nota S foi emitida isolada (N = 2) ou em  
335 conjunto de três notas (S S S) (N = 2) em seqüência com intervalos entre elas ou em  
336 duas notas seguidas, sem intervalo (SS).

337 Discussão

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

341 Barrio (1965) classificou os cantos de anúncio das espécies de *Physalaemus* em  
342 quatro tipos. O tipo A é formado por notas longas (0,5 a 1,5 segundos) com harmônicos,  
343 com uma modulação de freqüência ascendente e descendente no início da nota; o tipo B  
344 é também formado por notas longas, com menos harmônicos que o tipo A, uma  
345 freqüência fundamental mais alta e modulação de freqüência ascendente; o tipo C é de  
346 notas curtas com harmônicos e com modulação de freqüência descendente; e o tipo D é  
347 uma nota curta, rápida, com pulsos e sem harmônicos, similar a um ruído. Segundo a  
348 classificação de Barrio (1965), *P. spiniger* apresenta notas dos tipos B, C e D. A nota de  
349 anúncio (aqui chamada de A, ou Ca quando se trata do canto de anúncio) corresponde a

350 do tipo B, a territorial (aqui chamada de T ou Ct quando se trata do canto territorial)  
351 corresponde ao tipo C e a de briga (aqui chamada de F ou Fc quando se trata do canto  
352 de briga) corresponde ao tipo D. O tipo A de Barrio (1965) parece corresponder a uma  
353 das conformações (Figura 2u,v) da nota de anúncio, que ocorre com até mais do que o  
354 dobro da duração da média, porém, sem a alteração no 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 anúncio de *P. spiniger* é diferente do emitido por *P. nanus* e *P.*  
361 *atlanticus* (as três espécies morfológicamente crípticas) conforme já discutido em  
362 Haddad & Pombal (1998) e Haddad & Sazima (2004). *Physalaemus spiniger* apresenta  
363 a nota de anúncio de menor duração, frequências mais altas e taxa de pulsos/nota mais  
364 alta que *P. atlanticus* (Haddad & Sazima 2004) e duração maior que *P. nanus*, além da  
365 estrutura do canto de *P. nanus* que é composto por sete a nove notas, enquanto em *P.*  
366 *spiniger* é composto por uma única nota pulsionada (Haddad & Pombal 1998).

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

375 seguidas e sem intervalo. Nas gravações, os machos podem ser individualizados pela  
376 frequência dos seus harmônicos e a distribuição da intensidade sonora. Não foi possível  
377 observar o comportamento desses machos para verificar qual deles foi o residente e qual  
378 o visitante e nem qual venceu o 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 amplexado 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 já foi indicada para outras  
424 espécies da Mata Atlântica (*Hylodes heyeri* Haddad, Pombal & Bastos, 1996 - Lingnau

425 & Bastos 2007) e é inversa por questões energéticas (Navas & Bevier 2001). A  
426 vocalização envolve gasto de energia, pois para a sua produção ocorre contração  
427 muscular e a temperatura pode afetar a atividade muscular (Navas & Bevier 2001).  
428 Então, para manter a efetividade da vocalização em temperaturas baixas, ocorre um  
429 aumento na duração das notas e uma redução na taxa de repetição (Navas & Bevier  
430 2001). Relações entre taxa de repetição e a temperatura já foram encontradas para outras  
431 espécies (Sullivan & Malmos 1994; Giacoma et al. 1997; Navas & Bevier 2001), porém  
432 não ocorreu com *P. spiniger* neste estudo.

433 A variação das frequências dos cantos em relação aos fatores intrínsecos (CRC e  
434 massa dos machos em atividade de vocalização) segue o esperado: indivíduos maiores e  
435 mais pesados produzem sons de frequências mais baixas (Giacoma et al. 1997; Márquez  
436 & Bosh 2001; Toledo & Haddad 2009). Com relação à duração é esperado que  
437 indivíduos maiores produzam notas mais longas, dada a relação alométrica entre  
438 tamanho do corpo e tamanho dos pulmões, e do tamanho dos pulmões com a capacidade  
439 e retenção de ar (Toledo & Haddad 2009). Isto é, quanto maior o indivíduo maior a  
440 capacidade de reter mais ar e sua capacidade de emitir notas mais longas. Já a relação  
441 negativa entre a massa corporal e a duração da nota, neste estudo, foi diferente do  
442 esperado e pode ter sido causada pelo pequeno número de indivíduos pesados (uma vez  
443 que quando retirado da análise de correlação do CRC x duração da nota o indivíduo que  
444 não teve sua massa mensurada, esta relação entre as variáveis deixa de ser positiva e  
445 passa a ser negativa).

446 A vocalização em antifonia é uma estratégia comportamental utilizada para  
447 reduzir a sobreposição de cantos de machos coespecíficos próximos (Schwartz 1994;  
448 Wogel et al. 2002). Para isso, podem aumentar ou encurtar o intervalo entre cantos ou  
449 parar repentinamente, retornando a vocalizar em antifonia com o macho coespecífico

450 (Wogel et al. 2002). Esse mecanismo parece estar relacionado à densidade populacional  
451 (Cardoso & Martins 1987), mas para *P. signifer* esta relação não ocorre, uma vez que  
452 machos vocalizam em antifonia mesmo com apenas dois indivíduos na poça (ver  
453 também Wogel et al. 2002). Este comportamento só havia sido documentado para duas  
454 espécies deste gênero: *P. cuvieri* (Barreto & Andrade 1995) e *P. signifer* (Wogel et al.  
455 2002). E da mesma forma que *P. signifer*, *P. spiniger* vocalizou em antifonia mesmo na  
456 presença de somente dois machos.

457         Acrobacias vocais foram descritas para algumas espécies como *Odorrana*  
458 *tormota* (Wu 1977), uma espécie de ranídeo chinesa, que é capaz de variar  
459 enormemente a duração da nota (50 a 400 ms) e as modulações de frequência durante a  
460 execução da nota (Feng et al. 2002). Esta espécie é ainda capaz de estender sua  
461 vocalização a escalas ultrassônicas (> 20 kHz) (Feng et al. 2006), ou em frequências  
462 altas (~16 kHz). A habilidade desta espécie pode estar associada a estrutura do seu  
463 aparelho vocal (Feng et al. 2002; 2006). Para *Boophis madagascariensis* (Peters 1874),  
464 família Manteliidae, espécie endêmica de Madagascar, foram descritos 28 tipos  
465 diferentes de notas de anúncio em um total de 24 h de gravação (Narins et al. 2000).  
466 Sendo que, um mesmo macho foi capaz de emitir 14 diferentes tipos de notas (Narins et  
467 al. 2000). Após uma análise morfológica na estrutura muscular vocal desta espécie,  
468 verificou-se que algumas adaptações incomuns podem estar favorecendo a espécie à  
469 tamanha articulação vocal (Narins et al. 2000). No entanto os autores, não descartam a  
470 possibilidade de que este repertório vocal extenso seja produto de variações no circuito  
471 neural que se comunica com a laringe (Narins et al. 2000). As acrobacias vocais  
472 produzidas por *P. spiniger*, dada pela variação no canto de anúncio, pode ter relação  
473 com o circuito neural, ou com seu aparelho fonador, porém, outros estudos são  
474 necessários para que sejam feitas especulações neste sentido.

475 Modulações de frequência do canto de anúncio foram encontradas em menor  
476 quantidade para espécies de Cycloramphidae (Opazo et al. 2009) em que foram  
477 identificados quatro padrões de modulação da nota de anúncio, além de variações inter e  
478 intraindividuais. No entanto, ainda não se sabe a função destes padrões de variação, mas  
479 o que ocorre com *Eupsophus queulensis* Veloso, Celis-Diez, Guerrero, Méndez-Torres,  
480 Iturra-C. & Simonetti, 2005 contribui para uma relação de que espécies que habitam  
481 ambientes barulhentos apresentam padrões de modulação de forma a facilitar a  
482 comunicação (Opazo et al. 2009). Mas este não parece ser o caso de *P. spiniger*, que  
483 aparentemente não apresenta padrões entre as modulações, não habita riachos nem  
484 ambientes ruidosos. O repertório curto, pouco variável e estereotipado de notas é comum  
485 em muitas espécies de Hyliade e Leptodactylidae (Ryan 1980; Narins et al. 2000).  
486 Porém, a habilidade vocal dos Mantelliidae em combinar diversas notas dentro de um  
487 repertório extenso é incomum, mas não exclusiva (Narins et al. 2000). O número de  
488 notas no repertório vocal reflete a pressão de seleção na promoção do isolamento  
489 reprodutivo entre as espécies, o ambiente e o desenvolvimento do comportamento social  
490 (Capranica 1976). Por outro lado, a variação sonora pode estar atuando como uma  
491 ferramenta de reconhecimento individual, mantendo o código de reconhecimento  
492 específico (Vielliard 2004). Dentro da família Leiuperidae, *Engystomops pustulosus*  
493 apresenta canto de anúncio composto por dois componentes: o “whine” e o “chuck”. O  
494 “whine” está sempre presente e pode estar seguido de zero a seis “chucks” (Rand &  
495 Ryan 1981). Foi demonstrado que as fêmeas preferem machos com cantos mais  
496 complexos, que é dado pela adição de “chucks” (Rand & Ryan 1981). Ademais, a  
497 espécie é capaz de aumentar a complexidade do seu canto de anúncio, incluindo  
498 “chucks” quando o competidor apresenta a frequência do “whine” similar ou mais alta  
499 que a sua própria (Bosh et al. 2000). Já se sabe que em *E. pustulosus*, certa habilidade

500 vocal é associada a morfologia do aparelho fonador (Gridi-Papp et al. 2006), a presença  
501 de uma massa fibrosa anexa às cordas vocais caracteriza a produção da nota “chuck”, e  
502 a habilidade de produção da nota é alterada pela remoção desta massa (Gridi-Papp et al.  
503 2006). Mas este não parece ser o caso de *P. spiniger*, já que as notas, apesar de  
504 variáveis, não são tão distintas quanto o *whine* e o *chuck* de *E. pustulosus*.  
505 Aparentemente, a habilidade vocal de *P. spiniger* está associada à morfologia do seu  
506 aparelho vocal, ou à variação individual do canto.

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

517 Este estudo revela que *P. piniger* possui uma grande variação vocal e é portanto  
518 um excelente modelo para estudos bioacústicos.

519

520 Agradecimentos:

521 Agradecemos a Juliana Zina pelo empréstimo de gravações da população da Ilha  
522 de Cananéia. A Capes e a Fapesp (proc. no. 2008/50325-5 e 2008/52847-9), pelo auxílio  
523 e pela bolsa de estudos e a FBPN pelo apoio logístico. Licença de coleta ICMBio  
524 (licença nº 16461-1, código de autenticação 24171151).

## 525 Referências

- 526 Barreto L. & Andrade, G.V. (1995) Aspects of the reproductive biology of *Physalaemus*  
527 *cuvieri* (Anura: Leptodactylidae) in northeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*,  
528 **16**(1), 67-76.
- 529 Barrio, A. (1965) El género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina.  
530 *Physis* **25**, 421-448.
- 531 Bastos R.P. & Haddad C.F.B. (1995) Vocalizações e interações acústicas de *Hyla*  
532 *elegans* (Anura, Hylidae) durante a atividade reprodutiva. *Naturalia* **20**, 165-176
- 533 Bastos R.P. & Haddad C.F.B. (2001) Larvas de *Scinax rizibilis* (Bokermann) (Anura,  
534 Hylidae): avaliando o efeito parental. *Revista Brasileira de Zoologia* **18**, 1127-  
535 1133.
- 536 Bastos R.P. & Haddad C.F.B. (2002) Acoustic and aggressive interactions in *Scinax*  
537 *rizibilis* (Anura: Hylidae) during the reproductive activity in southeastern Brazil.  
538 *Amphibia-Reptilia* **23**, 97-104.
- 539 Bastos R.P., Bueno M.A.F., Dutra S.L. & Lima L.P. (2003) Padrões de vocalização de  
540 anúncio em cinco espécies de Hylidae (Amphibia: Anura) do Brasil Central.  
541 *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS* **16**, 39-51.
- 542 Boatright-Horowitz S.L., Horowitz S.S., & Simmons A.M. (2000) Patterns of vocal  
543 interactions in a bullfrog (*Rana catesbeiana*) chorus: preferential responding to  
544 far neighbors. *Ethology* **106**, 701-712.
- 545 Bosch J., Rand A.S. & Ryan M.J. (2000) Acoustic competition in *Physalaemus*  
546 *pustulosus*, a differential response to calls of relative frequency. *Ethology* **106**,  
547 865-871.

- 548 Bourne G.R. & York H. (2001) Vocal behaviors are related to nonrandom structure of  
549 anuran breeding assemblages in Guyana. *Ethology, Ecology and Evolution* **13**,  
550 313-329.
- 551 Brasileiro C.A. & Martins M. (2006) Breeding biology of *Physalaemus centralis*  
552 Bokermann, 1962 (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil *Journal of*  
553 *Natural History*, **40**(17–18), 1199–1209.
- 554 Brenowitz E.A. & Rose G.J. (1999) Female choice and plasticity of male calling  
555 behaviour in the Pacific treefrog (*Hyla regilia*). *Ethology* **57**, 1337-1342.
- 556 Capranica, R.R. (1976). The auditory system. In *Physiology of the amphibia* III: 443-  
557 466. Lofts, B. (Ed.). New York: Academic Press.
- 558 Cardoso A.J. & Viellard, J. 1990 Vocalizações de anfíbios anuros de um ambiente  
559 aberto, em Cruzeiro do sul, Estado do Acre. *Revista Brasileira de Biologia* **50**,  
560 229-242.
- 561 Cardoso, A.J. & Martins J.E. (1987) Diversidade de anuros durante o turno de  
562 vocalizações, em comunidade neotropical. *Papéis avulsos de Zoologia* **36**(23),  
563 270-285.
- 564 Castellano, S., Tontini, L. Giacoma C. Lattes, A. & Balletto, E. (2002). The evolution  
565 of release and advertisement calls in green toads (*Bufo viridis* complex).  
566 *Biological Journal of the Linnean Society* **77**, 379-391.
- 567 Christensen-Dalsgaard, J., Ludwig, T.A, & Narins, P.M. (2002) Call diversity in an Old  
568 World treefrog: level dependence and latency of acoustic responses.  
569 *Bioacoustics* **13**, 80.
- 570 Costa, R.C., Facure, K.G. & Giaretta, A.A. (2006) Courtship, vocalization, and tadpole  
571 description of *Epipedobates flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) in southern  
572 Goiás, Brazil." *Biota Neotropica* **6**(1).

- 573 Cruz, A.G.C. Nascimento, L.B. & Feio, R.N. (2007) A new specie of the genus  
574 *Physalaemus* Fitzinger 1826 (Anura: Leuiperidae) from southeastern Brasil.  
575 *Amphibia-Reptilia* **28**, 457-465.
- 576 Duellman W.E. & Trueb L. (1994) *Biology of amphibians* Johns Hopkins University  
577 Press.Maryland 670p.
- 578 Etges, W.J. (1987) Call site choice in male anurans. *Copeia* 910-923.
- 579 FBPN (2001) Fundação O Boticário de Proteção da Natureza. Reserva Natural Salto  
580 Morato - Plano de Manejo. Versão preliminar. São José dos Pinhais.
- 581 Feng, A.S. Narins P.M. & Xu , C. (2002) Vocal acrobatics in a Chinese frog, *Amolops*  
582 *tormotus*. *Naturwissenschaften* **89**, 352–356.
- 583 Feng, A.S., Narins, P.M., Xu, C.H., Lin, W.Y., Yu, Z.L., Qiu, Q., Xu, Z.M. & Shen. J.  
584 X. (2006) Ultrasonic communication in frogs. *Nature* **440**, 333-336.
- 585 Freitas, E.F.L. de, Spirandeli-Cruz, E.F. & Jim, J. (2001) Comportamneto reprodutivo  
586 de *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) (Anura: Leptodactylidae)  
587 *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS* **14**(2), 121-132.
- 588 Gridi-Papp, M., Rand A.S. & Ryan M.J. (2006) Complex call productions in the túngara  
589 frog. *Nature* **441**.
- 590 Guimarães, D.L. & Bastos, R.P. (2003). Vocalizações e interações acústicas em *Hyla*  
591 *raniceps* (Anura: Hylidae) durante a atividade reprodutiva. *Iheringia* **93**(2), 149-  
592 158.
- 593 Haddad C.F.B. & Cardoso A.J. (1992) Elección del macho por la hembra de *Hyla*  
594 *minuta* (Amphibia: Anura). *Acta Zoologica Lilloana* **41**, 81-91

- 595 Haddad, C.F.B & Pombal Jr, J.P. (1998) Redescription of *Physalaemus spiniger*  
596 (Anura: Leptodactylidae) and descriptions of two new reproductive modes.  
597 *Journal of Herpetology* **32**(4), 557-565.
- 598 Haddad, C.F.B. & Sazima, I. (2004) A new species of *Physalaemus* (Amphibia;  
599 Leptodactylidae) from the Atlantic forest in southeastern Brazil. *Zootaxa* **479**, 1-  
600 12.
- 601 Hammer, Ø., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. (2001) PAST: Paleontological statistics  
602 software package for education and analysis. *Paleontologia Electronica* **4**(1), 9.
- 603 Hartmann, M.T., Hartmann, P.A. & Haddad, C.F.B. (2006) Repertório vocal de *Hylodes*  
604 *phyllodes* (Amphibia, Anura, Hylodidae). *Papéis Avulsos de Zoologia* **46**(17),  
605 203-209.
- 606 Heyer W.R. & Wolf J. (1989) *Physalaemus crombiei* (Amphibia: Leptodactylidae) a new  
607 frog species from Espírito Santo, Brazil with comments on the *P. signiferus*  
608 group. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. **102**, 500-506.
- 609 Heyer, W.R., Rand, A.S., Cruz, A.A.G. & Peixoto, O.L. (1990) Frogs of Boracéia.  
610 *Arquivos de Zoologia* **31**(4), 231-410.
- 611 Lingnau, R. & Bastos, R.P. (2007) Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes*  
612 *heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on  
613 advertisement call variation. *Journal of Natural History* **41**(17-20), 1227-1235.
- 614 Lingnau, R. & Bastos, R.P. (2003) Vocalizações de duas espécies de anuros do sul do  
615 Brasil (Amphibia hylidae). *Arquivos do Museu Nacional* **61**(3), 203-207.
- 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., Guimarães L.D. & Bastos R.P. (2004) Vocalizações de *Hyla werneri*  
620 (Anura, Hylidae) no sul do Brasil. *Phyllomedusa* **3**(2), 115-120.
- 621 Lutz, B. (1960) Fighting and an incipient notion of territory in male tree frogs. *Copeia*  
622 **1960**, 61-63.
- 623 Márquez, R., & Bosch J. (2001). Communication and mating in the midwife toads  
624 (*Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*). In: *Anuran communication*. (Ed  
625 Ryan M.J.) Washington: Smithsonian Institution Press. p 220–231.
- 626 Martins, M., Pombal Jr, J.P. & Haddad, C.F.B. (1998) Escalated aggressive behavior  
627 and facultative parental care in the nest building gladiator frog *Hyla faber*.  
628 *Amphibia-Reptilia* **19**, 65-73.
- 629 Narins P.M., Feng A.S., Yong H.S., & Christensen-Dalsgaard J. (1998) Morphological,  
630 behavioral and genetic divergence of sympatric morphotypes of the treefrog  
631 *Polypedetes leucomystax* in Peninsular Malaysia. *Herpetologica* **54**,129–142.
- 632 Narins, P.M. & Capranica R.R. (1978) Communicative significance of the two-note call  
633 of the treefrog *Eleutherodactylus coqui*. *Journal of Comparative Physiology*  
634 **127**, 1–9.
- 635 Narins, P.M.; Lewis, E.R. & McClelland, B.E. (2000) Hyperextended call note  
636 repertoire of the endemic Madagascar treefrog *Boophis madagascariensis*  
637 (Rhacophoridae) *Journal of Zoology***250**, 283-298.
- 638 Navas, C.A. & Bevier C.R. (2001) Thermal dependency of calling performance in the  
639 eurithermic frog *Colostetus subpunctatus*. *Herpetologica* **57**, 384-395.
- 640 Oldham, R.S. & Gerhardt, H.C. (1975) Behavioral isolating mechanisms of the  
641 treefrogs *Hyla cinerea* and *H. gratiosa*. *Copeia* **1975**, 223–231.

- 642 Oliveira Filho, J.C. & Giaretta, A.A. (2008) Reproductive behavior of *Leptodactylus*  
643 *mystacinus* (Anura, Leptodactylidae) with notes on courtship call of other  
644 *Leptodactylus* species *Iheringia* **98**(4), 508-515.
- 645 Opazo, D., Velásquez, N., Veloso, A., & Penna M. (2009) Frequency-Modulated  
646 Vocalizations of *Eupsophus queulensis* (Anura: Cycloramphidae) *Journal of*  
647 *Herpetology* **43**(4), 657–664.
- 648 Owen, P.C. & Tucker, J.K. (2006) Courtship Calls and Behavior in Two Species of  
649 Chorus Frogs, Genus *Pseudacris* (Anura: Hylidae) *Copeia* **1**, 137–144.
- 650 Pimenta, B.V.S., Cruz, C.A.G. & Silvano, D.L. (2005) A new species of the genus  
651 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain  
652 Forest of southern Bahia, Brazil. *Amphibia-Reptilia* **26**, 201-210.
- 653 Pombal Jr, J.P. & Madureira C.A. (1997) A new species of *Physalaemus* (Anura,  
654 Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest of Northeastern Brazil. *Alytes*  
655 **15**(3), 105-112.
- 656 Rand, A.S. & Ryan M. J. (1981) The adaptative significance of the complex vocal  
657 repertoire in a neotropical frog. *Zeitschrift fur Tierpsychologie* **57**, 209-214.
- 658 Ryan M. J. (2001) *Anuran communication*. Washington: Smithsonian Institution Press.
- 659 Ryan M. J. (1983) Sexual selection and communication in a neotropical frog  
660 *Physalaemus pustulosus*. *Evolution* **37**, 261-272.
- 661 Ryan, M. J. (1980). Female mate choice in a neotropical frog. *Science* **209**, 523-525.
- 662 Ryan, M.J., Tuttle, M.D., & Rand, A.S. (1982). Bat predation and sexual advertisement  
663 in a neotropical anuran. *American naturalist* **119**(19), 136-139.
- 664 Schwartz, J.J. & Wells, K.D. (1984). Interspecific acoustic interactions of the  
665 neotropical treefrog *Hyla ebraccata*. *Journal of Comparative Physiology*. **14**,  
666 211-224.

- 667 Schwartz, J.J. (1994) Male advertisement and female choice in frogs: recent findings  
668 and new approaches to the study of communication in a dynamic acoustic  
669 environment. *American Zoologist* **34**, 616-624.
- 670 Tipler, P. (1991) *Física para Cientistas e Engenheiros*. Volume 2: Gravitação ondas e  
671 termodinâmica 3 Ed. LTC Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. Rio de  
672 Janeiro 300 p.
- 673 Toledo, L.F. & Haddad, C.F.B. (2005) Acoustic repertoire and calling site of *Scinax*  
674 *fuscomarginatus* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* **39**(3), 455-464.
- 675 Toledo, L.F. & Haddad, C.F.B. (2009) Defensive vocalizations of Neotropical anurans.  
676 *South American Journal of Herpetology* **4**(1), 25-42.
- 677 Toledo, L.F., Guimarães, L.D., Lima, L.P., Bastos, R.P. & Haddad C.F.B. (2004) Notes  
678 on courtship, egg-laying site, and defensive behavior of *Epipedobates*  
679 *flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) from two mountain ranges of central and  
680 southeastern Brazil. *Phyllomedusa* **3**(2), 145-147.
- 681 Tuttle, M.D. & Ryan, M.J. (1982). The role of synchronized calling ambient light, and  
682 ambient noise in anti-bat-predator behavior of a treefrog. *Behavioral Ecology*  
683 *and Sociobiology*. **11**, 125-131.
- 684 Vielliard, J.M.E. (2004) A diversidade de sinais e sistemas de comunicação na fauna  
685 brasileira. Anais do I seminário Música Ciência e tecnologia: Acústica musical.  
686 p.145.
- 687 Wagner Jr, W.E. (1989) Graded aggressive signals in Blanchard's cricket frog: vocal  
688 responses to opponent proximity and size. *Animal Behaviour* **38**, 1025-1038
- 689 Weber, L.N. Gonzaga, L.P. & Carvalho e Silva, S.P. (2005) A new species of  
690 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland Atlantic Forest of Rio de Janeiro

- 691 state, Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylide) *Arquivos do Museu Nacional*,  
692 **63**(4), 677-684.
- 693 Wells, K.D. (1977) The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour* **25**,  
694 666–693.
- 695 Wells, K.D., Ed. (1988). *The effect of social interactions on anuran vocal behavior*. In  
696 B. Frittsch, M.J. Ryan, W. Wilczynski, T.E. Hetherington, and W. Walkowiak  
697 eds. *The Evolution of the Amphibians Auditory System*. John Wiley and Sons ,  
698 New York.
- 699 Wogel H., Abrunhosa, P.A. & Weber L.N. (2004) The tadpole, vocalizations and visual  
700 displays of *Hylodes nasus* (Anura, Leptodactylidae) *Amphibia-Reptilia* **25**, 291-  
701 227.
- 702 Wogel, H., Abrunhosa, P.A. & Pombal Jr, J.P. (2002) Atividade reprodutiva de  
703 *Physalaemus signifer* (Anura, Leptodactylidae) em ambiente temporário.  
704 *Iheringia* **92**(2), 57-70.
- 705 Zina, J. & Haddad, C.F.B. (2005) Reproductive activity and vocalizations of  
706 *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) in southeastern Brazil.  
707 *Biota Neotropica* **5**(2). Disponível em: [http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/](http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/pt/abstract?article+BN00605022005)  
708 [pt/abstract?article+BN00605022005](http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/pt/abstract?article+BN00605022005) Acessado em 17/10/2009.

709 Tabela 1 - Características físicas das notas A (anúncio), T (territorial), B (briga), S (soltura) e C (corte) de *Physalaemus spiniger*. Para as  
710 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  
711 todos os casos independente da relação com outra nota em seqüência. Os dados são apresentados como Média  $\pm$  Desvio padrão (máximo –  
712 mínimo), número de notas avaliadas; número de indivíduos avaliados.

	Nota A			Nota B			Nota C	Nota D	Nota E
	isolada	seguida de B	média	isolada	seguido A	média			
duração (s)	0,22 $\pm$ 0,06 (0,57 - 0,14) 233; 37 indiv.	0,27 $\pm$ 0,06 (0,39 - 0,14) 29; 4 indiv.	0,23 $\pm$ 0,06 (0,57 - 0,14) 262; 37 indiv.	0,09 $\pm$ 0,06 (0,21 - 0,04) 3; 2 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	365,05 $\pm$ 108,84 (752,1 - 214,88) 189; 37 indiv.	443 $\pm$ 93 (618 - 243) 29; 2 indiv.	375,2 $\pm$ 109,86 (752,1 - 214,88) 221; 37 indiv.	137,91 $\pm$ 99,98 (319,2 - 50,4) 3; 2 indiv.	240,76 $\pm$ 91,67 (376,32 - 46,08) 34; 8 indiv.	209,28 $\pm$ 104,82 (376,32 - 46,08) 37; 8 indiv.	102,09 $\pm$ 42,17 (46,08 - 291,04) 34; 4 indiv.	23,7 $\pm$ 4,8 (17 - 35) 18; 4 indiv.	80,23 $\pm$ 11,65 (66 - 106) 13; 2 indiv.
Fh1 (kHz)	0,43 $\pm$ 0,03 (0,3 - 0,5) 175; 37 indiv.	0,41 $\pm$ 0,04 (0,3 - 0,5) 8; 2 indiv.	0,43 $\pm$ 0,03 (0,3 - 0,5) 204; 37 indiv.	0,33 $\pm$ 0,04 (0,27 - 0,37) 3; 2 indiv.	0,34 $\pm$ 0,03 (0,29 - 0,45) 32; 8 indiv.	0,34 $\pm$ 0,03 (0,27 - 0,45) 35; 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	1,27 $\pm$ 0,09 (0,62 - 1,46) 170; 35 indiv.	1,25 $\pm$ 0,06 (1,12 - 1,38) 8; 2 indiv.	1,27 $\pm$ 0,09 (0,62 - 1,46) 197; 35 indiv.	1 $\pm$ 0,12 (0,8 - 1,12) 3; 2 indiv.	1,03 $\pm$ 0,09 (0,86 - 1,35) 32; 8 indiv.	1,02 $\pm$ 0,1 (0,8 - 1,35) 35; 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	1,68 $\pm$ 0,11 (1,23 - 1,98) 174; 35 indiv.	1,7 $\pm$ 0,1 (1,38 - 1,98) 8; 2 indiv.	1,68 $\pm$ 0,11 (1,23 - 1,98) 203; 35 indiv.	1,42 $\pm$ 0,09 (1,38 - 1,55) 3; 2 indiv.	1,39 $\pm$ 0,11 (1,29 - 1,72) 28; 8 indiv.	1,4 $\pm$ 0,11 (1,29 - 1,72) 31; 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	1,99 $\pm$ 0,2 (1,64 - 2,41) 34; 22 indiv.	1,99 $\pm$ 0,14 (1,72 - 2,15) 8; 2 indiv.	1,99 $\pm$ 0,19 (1,64 - 2,41) 43; 22 indiv.	1,74 $\pm$ 0,23 (1,38 - 1,89) 3; 2 indiv.	1,74 $\pm$ 0,13 (1,38 - 2,07) 32; 8 indiv.	1,74 $\pm$ 0,14 (1,38 - 2,07) 35; 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	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>3; 2 indiv.</b>	<b>27; 8 indiv.</b>	<b>30; 8 indiv.</b>	<b>20; 4 indiv.</b>	<b>13; 4 indiv.</b>
<b>Fh7</b>			<b>1,89 ± 0</b>	<b>1,95 ± 0,05</b>	<b>1,94 ± 0,05</b>	<b>2,4 ± 0,17</b>	<b>2,92 ± 0,32</b>
			<b>(1,89 - 1,89)</b>	<b>(1,89 - 1,98)</b>	<b>(1,89 - 1,98)</b>	<b>(2,07 - 2,5)</b>	<b>(2,58 - 3,27)</b>
			<b>3; 2 indiv.</b>	<b>3; 8 indiv.</b>	<b>6; 8 indiv.</b>	<b>6; 4 indiv.</b>	<b>5; 4 indiv.</b>
<b>Fh8</b>							<b>3,36 ± 0</b>
							<b>(3,36 - 3,36)</b>
							<b>1; 4 indiv.</b>

---

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

	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	↑
T	7,56		↑	↑	↓	6,51		↑	↑	↑	8		↓	↓	↑
B	16,24	8,67		NS	↓	15,06	8,54		NS	NS	2,87	5,1		↓	↑
S	18,9	11,32	2,64		↓	18,37	11,86	3,34		NS	3,77	11,7	6,64		↑
C	1,22	8,78	17,5	20,1		16,28	9,76	1,22	2,09		15	7,35	12,4	19	

717 Tabela 3 – Correlação de Spearman entre as características da nota do canto de anúncio  
 718 de *Physalaemus spiniger* e temperatura do ar, CRC e massa corpórea. NS = valores não  
 719 significativos.

720

Características da nota de anúncio	Temperatura do ar		CRC		Massa Corpórea	
	rs	P	rs	P	rs	P
Duração	-0,75	< 0,001	0,48	< 0,001	-0,44	< 0,001
F. Fundamental	0,006	NS	-0,09	NS	-0,19	NS
F. dominante	0,145	NS	-0,42	< 0,001	-0,46	< 0,001
F. dom. Fh1	0,21	< 0,05	-0,62	< 0,001	-0,65	< 0,001
F. dom Fh2	0,04	NS	-0,56	< 0,001	-0,76	< 0,001

721

722 Legenda das Figuras

723 Figura 1 – Espectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) dos diferentes cantos  
724 registrados para *Physalaemus spiniger* em Guaraqueçaba, estado do Paraná: A) canto de  
725 anúncio (gravado em 19/08/2008 as 21h40, com 19,6 °C e 80 % de umidade relativa do  
726 ar), B) canto territorial, C) canto de briga (gravado em 19/08/2008 as 23h, com 18,1°C  
727 e 80% de umidade relativa do ar), D) canto de soltura (gravado em 20/08/2009 as  
728 15h10, com 19,4°C e 89% de umidade relativa do ar) e E) canto de amplexo.

729

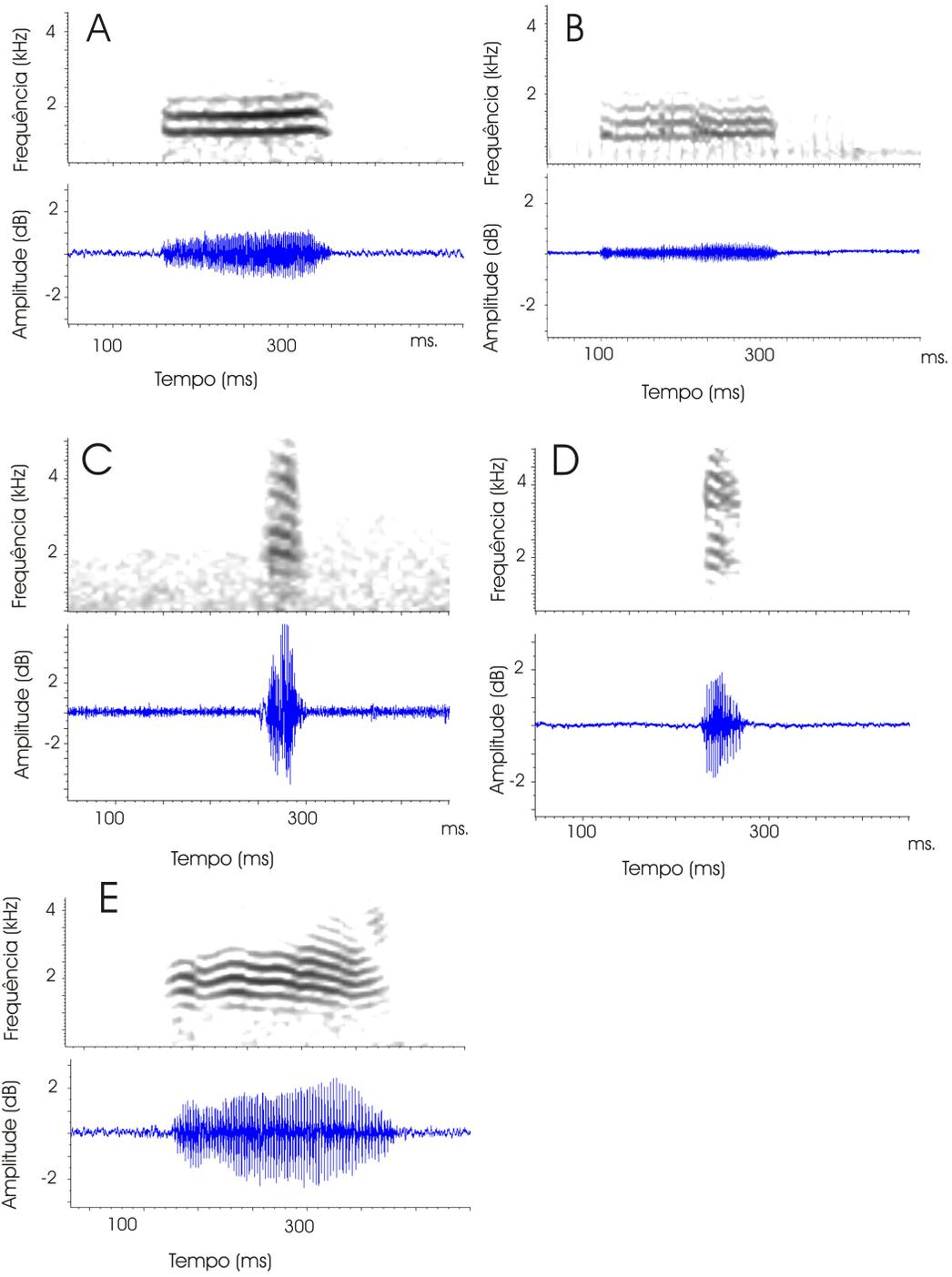
730 Figura 2 – Vinte e duas configurações (de A a V) registradas para o canto de anúncio de  
731 *Physalaemus spiniger* em Guaraqueçaba, estado do Paraná.

732

733 Figura 3 – Diferentes configurações para as notas de anúncio (A) seguida da nota  
734 territorial (T), sem intervalo (AT) de *Physalaemus spiniger* em Guaraqueçaba, estado  
735 do Paraná. Em evidência a nota A e a nota T indicando aproximadamente a sua duração.

736

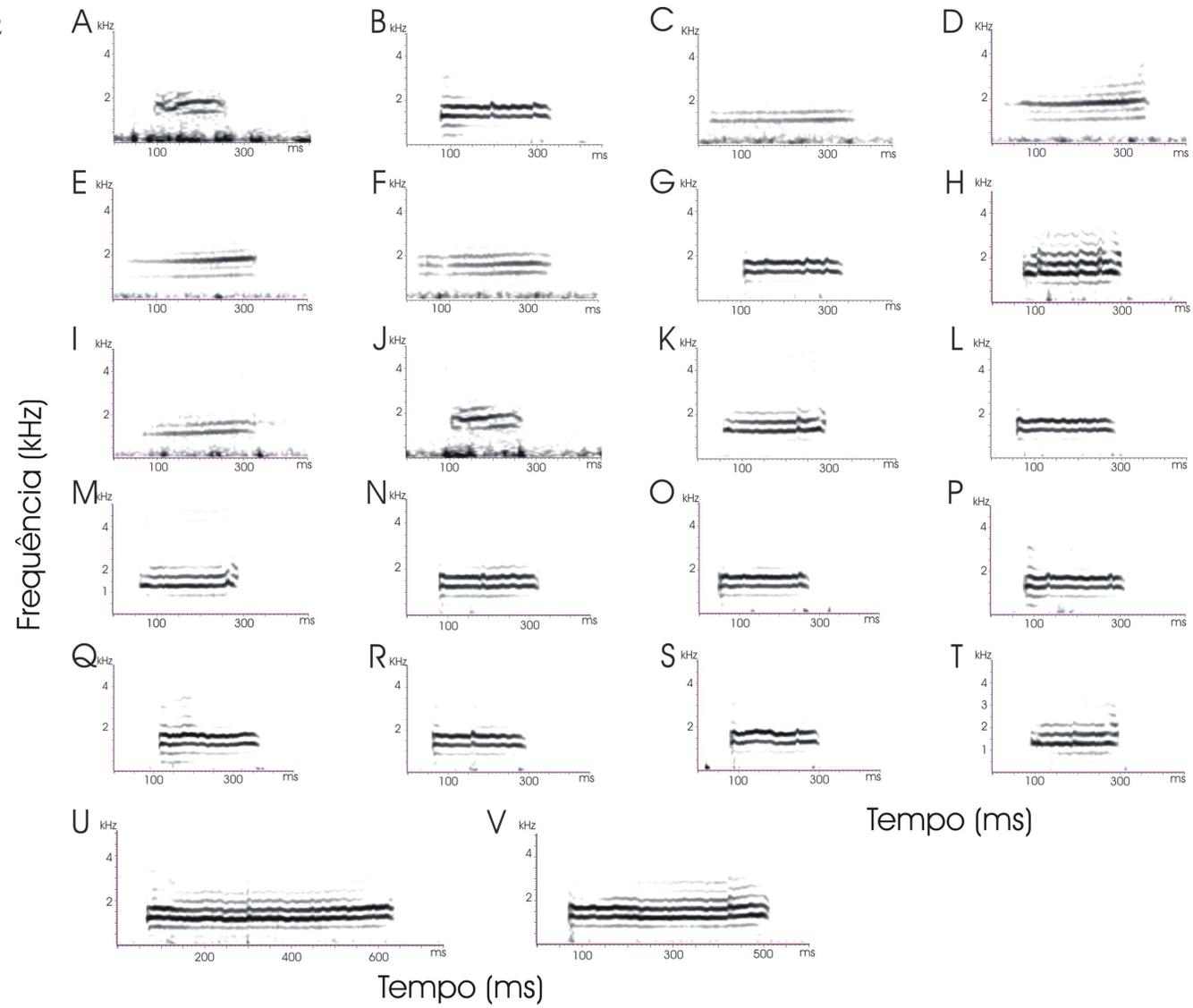
737 Figura 1 -

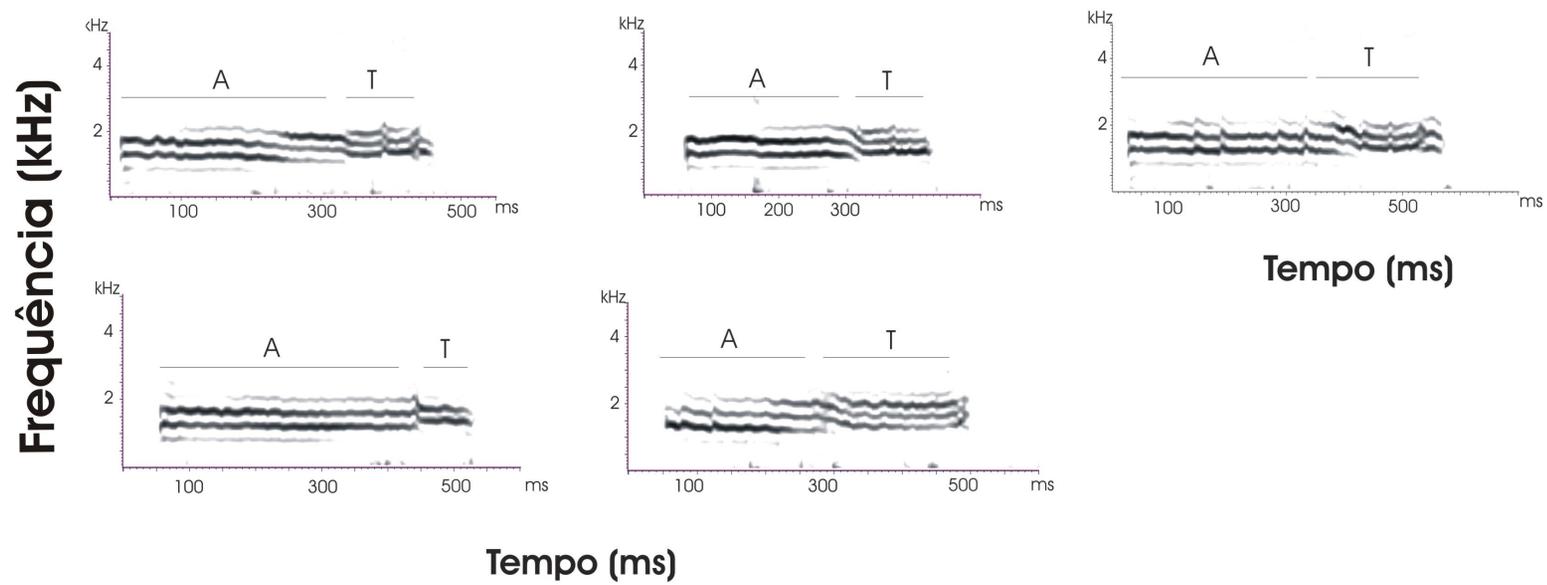


738

739 Figura 2

740





741 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 Osvaldo 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 (representing size and shape in anatomical structures) in multimentional  
25 analysis (such as PCA). This kind of analysis may provide information about which  
26 environmental factors are influencing morphologic variation. In this way, we analyzed  
27 individuals of *Physalaemus spiniger* deposited in four scientific collections which  
28 holds the largest collection of this species. Thirteen morphological measurements were  
29 taken in seven populations and 20 environmental characteristics of each location were  
30 assembled to check their influence on morphological variation between populations.  
31 The three first PCA axes explained more than 81 % of variance. The PC 1 and PC 2  
32 explained variation in shape and PC 3 explained variation related to the size of  
33 individuals. The canonical variate analysis indicated a non-coincidence of centroids  
34 with the formation of four groups. The first eigenvector explained 38 % and the second  
35 explained 28 %. The three first components of a PCA on environmental variables  
36 explained about 97 % of the total variation. Despite the pairwise linear correlation test  
37 showed a congruence between morphological variables and climatic factors a partial  
38 mantel test, taking together morphology, geographic distance and climatic descriptors,  
39 did not indicate that the cause of the populational variation could be attributed to  
40 climatic factors or geographic distance. The morphological difference between  
41 populations occurred as a latitudinal gradient: populations in the north portion of the  
42 geographical range tend to have a longer than wider head (in the south, populations tend  
43 to have a wider than longer head), larger eyes and nose (smaller in the southern  
44 population) and a smaller body size (bigger body size in the southern population). This  
45 is a pattern that agrees with those expected from Bergmann's rule. *Physalaemus*

46 *spiniger* fits Bergmann's rule with morphology responding to a latitudinal gradient of  
47 isothermality and temperature seasonality with southern population of *P. spiniger* larger  
48 than the north populations. The head size and width also varied in a gradient pattern  
49 with northern population possessing a longer head and southern population having a  
50 wider head, which could lead to southern population feeding upon larger size preys.

51

52 Keywords: Multidimensional Analysis; Morphometry; *Physalaemus spiniger*;  
53 Geographic variation.

54 Resumo

55 A variação geográfica da morfologia de espécies pode ser mensurada a partir de um  
56 grande número de caracteres (tratando, por exemplo, a forma e o tamanho de diversas  
57 estruturas anatômicas) e em análises multimensionais (como a PCA). Este tipo de  
58 análise pode trazer informações sobre quais fatores ambientais podem estar  
59 influenciando a variação morfológica. Neste sentido, analizamos indivíduos de  
60 *Physalaemus spiniger* depositados em quatro coleções científicas que detém a maior  
61 coleção desta espécie. Foram medidas 13 variáveis morfológicas de sete populações e  
62 utilizamos 20 variáveis abióticas de cada localidade para verificar a influência dessas  
63 características nas populações. Os três primeiros eixos da PCA explicam mais de 81 %  
64 da variação, com o CP1 e CP2 explicando a forma e o CP3 explicando o tamanho. A  
65 análise de variáveis canônicas mostra uma não coincidência dos centróides, com a  
66 formação de quatro grupos. O primeiro autovetor explica 38 % e o segundo explica 28  
67 %. Os três primeiros componentes da PCA das características ambientais explicam 97%  
68 da variação total. Apesar de o teste de correlação pareado apontar uma certa  
69 congruência entre as variáveis morfológicas e as variáveis ambientais, o teste parcial de

70 mantel, unindo a matriz de morfologia, distância geográfica e similaridade climática não  
71 aponta que a causa da variação entre as populações podem ser atribuídas a nenhum  
72 desses fatores (distância geográfica ou fatores climáticos). A diferença morfológica  
73 entre as populações sobre um gradiente latitudinal: populações na porção norte da  
74 distribuição da espécie tendem a possuir a cabeça mais longa do que larga (no sul, as  
75 populações tem a cabeça mais larga do que longa), olhos e focinhos maiores ( são  
76 menores nas populações do sul) e um tronco menor (é maior nas populações do sul).  
77 Este padrão segue o esperado pela regra de Bergmann. *Physalaemus spiniger* segue a  
78 regra de Bergmann quanto a morfologia, respondendo a um gradiente latitudinal de  
79 isothermalidade e sazonalidade da temperatura com as populações do sul sendo maiores  
80 que as populações do norte. O tamanho e largura da cabeça também variam de acordo  
81 com o gradiente, sendo que ao norte as populações possuem uma cabeça alongada e ao  
82 sul uma cabeça mais larga, o que poderia permitir essas populações se alimentarem de  
83 presas maiores.

84

85 *Palavras-chave:* Análise Multidimensional; Morfometria; *Physalaemus spiniger*;  
86 Variação Geográfica.

87

## 88 Introdução

89 A VARIACÃO geográfica de caracteres entre populações é a observação do padrão  
90 de variação e covariação de descritores morfológicos que pode tanto ser produto de  
91 mecanismos ecológicos quanto evolutivos (Gould & Jonhston, 1972). Desta forma, o  
92 estudo destas variações no espaço geográfico pode fornecer informações importantes a  
93 respeito dos padrões de adaptação a diferentes hábitats, a uma separação histórica, ou  
94 isolamento ecológico (Benitez-Diaz, 1993). Assim, a compreensão completa destes  
95 padrões é uma primeira etapa para a compreensão de processos evolutivos em  
96 populações naturais (Benitez-Diaz, 1993).

97 A variação geográfica pode ser mensurada a partir de padrões morfológicos,  
98 tanto de forma unidimensional quando multidimensional. A forma unidimensional trata  
99 da variação de características onde se tem relações diretas entre as variáveis (Peres-  
100 Neto, 1995). Já a multidimensional trata da relação alométrica entre as variáveis e  
101 introduz a consideração da forma nas análises das variáveis (referências em Reis, 1988).  
102 A perspectiva multidimensional pode ser tratada pela morfometria tradicional, com  
103 relações ortogonais baseadas na distância entre as variáveis e pela morfometria  
104 geométrica, que utiliza de marcos anatômicos ou contornos que permitem a descrição da  
105 posição da variável em relação as demais (Rohlf & Marcus, 1993). Embora os dados  
106 originais sejam diferentes nas duas formas de abordagem, o tratamento estatístico é  
107 semelhante. Neste procura-se determinar as relações entre e dentro das variáveis  
108 (estrutura latente) através de técnicas de redução do espaço dimensional (e.g. análise  
109 dos componentes principais) e de teste de hipóteses a priori, como nas análises das  
110 variáveis canônicas e técnicas discriminantes em geral (Morrison, 1976).

111 Análises de variabilidade morfológica ao longo da distribuição geográfica de  
112 algumas espécies de anuros têm apontado para o tamanho como um descritor

113 importante, como nos casos de *Eupemphix nattereri* Steindachner, 1863 (Silva et al.,  
114 2008), *Hyla intermedia* Boulenger, 1882 (Rosso et al., 2004), *Hypsiboas bischoffi*  
115 (Boulenger, 1887) (Marcelino et al., 2009), *Rhinella spinulosa* (Wiegmann, 1834)  
116 (Méndez et al., 2004), o grupo de espécies de *Rhinella crucifer* (Wied-Neuwied, 1821)  
117 (Baldissera et al., 2004) e do complexo de *Pseudepidalea viridis* (Laurenti, 1968)  
118 (Castellano & Giacoma, 2000). Em alguns casos, a variação morfológica ao longo da  
119 distribuição tem implicações taxonômicas (Baldissera et al., 2004; Napoli &  
120 Caramaschi 1999 a,b) implicando que as descontinuidades morfológicas são  
121 congruentes com a delimitação de unidades evolutivas. Já em outros casos não  
122 (Castellano & Giacoma, 2000; Marcelino et al., 2009; Méndez et al., 2004; Rosso et al.,  
123 2004; Silva et al., 2008) indicando um contínuo de variação ao longo da distribuição.

124 Tendo como base a variação morfológica das espécies, alguns esforços têm sido  
125 feitos no sentido de identificar e resolver problemas taxonômicos (e.g., Napoli &  
126 Caramaschi, 1999a, b). Verifica-se a partir de variações morfológicas aliadas a outras  
127 ferramentas, como análise genética e bioacústica, se toda a variação interespecífica  
128 representa a variação dentro de uma mesma espécie ou se é possível definir duas ou  
129 mais espécies distintas, consideradas anteriormente como uma só entidade taxonômica.  
130 Casos como este não são incomuns e podem ser observados para *Dendropsophus*  
131 *anataliasiasi* (Bokermann, 1972) e *D. rubicundulus* (Reinhardt & Lütken, 1862), com a  
132 descrição de *D. cachimbo* Napoli & Caramaschi, 1999 (Napoli & Caramaschi, 1999a), e  
133 pela avaliação do complexo *D. tritaeniatus*, com a descrição de *D. jimi* Napoli &  
134 Caramaschi, 1999 e *D. rhea* Napoli & Caramaschi, 1999 (Napoli & Caramaschi,  
135 1999b).

136 Variações morfológicas associadas a gradientes latitudinais foram encontradas  
137 para diversas espécies de anuros (e.g., Alexandrino et al., 2005; Baldissera et al., 2004;

138 Benitez-Díaz, 1993; Castellano & Giacoma 2000; Funk et al., 2008; Marcelino et al.,  
139 2009; Méndez et al., 2004; Puerto et al., 2001; Rosso et al., 2004; Silva et al., 2008,  
140 Wüster et al., 1992). Por exemplo, em *Chioglossa lusitanica* Bocage, 1864, a variação  
141 morfológica coincide com a variação de marcadores genéticos ao longo do gradiente  
142 latitudinal analisado (Alexandrino et al., 2005), em *Eupemphix nattereri* a variação  
143 morfológica das populações parece estar associada à variação genética e não às  
144 variações ambientais (Silva et al., 2008) e *Hyla intermedia* apresenta variação  
145 populacional relacionada à distância genética e a geográfica (Rosso et al., 2004).  
146 Espécies do complexo de *Pseudepidalea viridis* apresentam diferenças em relação ao  
147 tamanho, com espécies maiores ocupando áreas mais áridas e a forma do corpo parece  
148 estar associada a distâncias geográficas entre as populações (Caltellano & Giacoma,  
149 2000), para algumas espécies do grupo *Rhinella crucifer* há uma diminuição do  
150 tamanho do corpo no sentido norte-sul (Baldissera et al., 2004) e já *Rhinella spinulosa*  
151 apresenta populações de tamanho de corpo menor ao norte (Méndez et al., 2004).  
152 *Hypsiboas bischoffi*, apesar de apresentar dois grupos distintos com relação a presença  
153 ou ausência de faixas dorso-longitudinais, não apresentou variação clinal geográfica  
154 (Marcelino et al., 2009).

155 O grupo de *Physalaemus signifer* é composto por 13 espécies que se distribuem  
156 desde o estado de Alagoas até o estado de Santa Catarina. *Physalaemus spiniger*  
157 (Miranda-Ribeiro, 1926) faz parte do grupo *P. signifer*. É uma espécie de anfíbio  
158 endêmica da Mata Atlântica e que se distribui na sua porção sul e sudeste. Ocorre do  
159 litoral norte do estado do Paraná (Guaraqueçaba) até o litoral sul do estado de São Paulo  
160 (Estação Ecológica da Juréia) (Haddad & Pombal, 1998).

161 Como as características ambientais (pluviosidade e temperatura) variam de  
162 acordo com a latitude, e como as características ambientais são fatores importantes e

163 limitantes para a vida, sobrevivência, desenvolvimento e reprodução dos anfíbios em  
164 uma determinada área, acreditamos que a variação das características ambientais, dentro  
165 da área de ocorrência de *Physalaemus spiniger*, possa influenciar a morfologia da  
166 espécie nas diferentes áreas de ocorrência. Desta forma, o objetivo deste estudo é testar  
167 se existe estruturação geográfica de *Physalaemus spiniger* ao longo da sua distribuição,  
168 usando marcadores morfológicos que descrevam a variação e covariação no tamanho e  
169 na forma e verificar se esta estruturação geográfica está associada a fatores climáticos e  
170 a distância geográfica entre as populações.

## 171 Material e Métodos

### 172 Amostra

173 Foram analisados exemplares de *P. spiniger* depositados nas coleções do Museu  
174 de História Natural Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná (MHNCI), Coleção de anfíbios  
175 Célio F. B. Haddad, Rio Claro, São Paulo (CFBH), Museu de Zoologia “Prof. Adão  
176 José Cardoso”, Campinas, São Paulo (ZUEC) e Museu de Zoologia da Universidade de  
177 São Paulo, São Paulo (MZUSP). Foi também consultada a coleção do Museu Nacional  
178 (MNRJ), mas nesta apenas poucos indivíduos estavam presentes e, portanto o material  
179 testemunho não foi consultado (Anexo 1).

180 As populações de *P. spiniger* foram determinadas com base nos municípios de  
181 procedência. Para os indivíduos destas populações 13 medidas morfológicas foram  
182 mensuradas: comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento da cabeça (CC), largura  
183 da cabeça (LC), comprimento do pé (CP; do calo metatarsal interno até a ponta do  
184 artelho mais longo), comprimento da tíbia (CT), comprimento do fêmur (CF), distância  
185 inter-ocular (DIO), diâmetro do olho (DO), distância olho-focinho (DOF), distância  
186 olho-narina (DON), distância narina-focinho (DNF = DOF – DON), comprimento

187 vertical da cabeça [ $CVC = \text{raiz quadrada de } CC^2 - (LC/2)^2$ ] e tronco ( $TRO = CRC -$   
188  $CVC$ )(Figura 1). As medidas foram realizadas com paquímetro digital Digimess  
189 (precisão 0,01 mm).

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

203 Populações selecionadas

204 Foram utilizados apenas machos adultos e localidades com no mínimo nove  
205 indivíduos. As populações consideradas foram a Estação Ecológica da Juréia (EEJ);  
206 Parque Estadual Campina do Encantado (PECE), Jacupiranga (JAC), Ilha Comprida  
207 (ICP), Ilha de Cananéia (ICN), Parque Estadual Ilha do Cardoso (PEIC) e Reserva  
208 Natural Salto Morato (RNSM). A última está localizada no estado do Paraná, as demais  
209 no estado de São Paulo (Tabela 1, Figura 2).

210 Análise estatística

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

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

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

232 As variáveis morfológicas foram testadas individualmente quanto a sua  
233 correlação (Zar, 1999) em relação à latitude. Anteriormente, foi verificada a

234 normalidade dos dados pelo teste de normalidade (Zar, 1999) e determinado o teste, se  
235 correlação de Pearson (r) ou de Spearman (rs).

236 Todas as análises foram realizadas no software PAST (Hammer et al., 2001),  
237 exceto o teste de Mantel parcial que foi realizado com o software ZT (Bonnet & Peer,  
238 2002).

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

## 245 Resultados

### 246 Verificação da acurácia da medição

247 A imprecisão da medição (dada pela porcentagem da variação dos valores de cada  
248 uma das variáveis em relação à média) foi maior que 50 % para DIO, DON, DOF, DO e  
249 DNF. No entanto, a análise de variância múltipla (MANOVA) não aponta diferença  
250 entre as amostras (Wilk's lambda = 0,53;  $F_{24/68} = 1,027$ ;  $P > 0,05$ ), indicando que a  
251 distribuição dos erros de medição são aleatórias.

### 252 Análise das variáveis morfológicas

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

256 As medidas morfológicas com o maior coeficiente de variação foram: distância  
257 narina-focinho ( $> 10\%$ ) nas populações de PEIC, EEJ, ICP, JAC, PECE e RNSM e  
258 diâmetro do olho ( $3,76\%$ ) na população de ICP (Tabela 2).

259 A partir da análise de componentes principais 13 eixos foram obtidos, sendo que  
260 os três primeiros componentes explicam juntos  $81\%$  (CP1 =  $61,7\%$ , CP2 =  $12\%$ ; CP3  
261 =  $7,3\%$ ) da variação (Tabela 3, Figura 3).

262 O primeiro componente (CP1) é um contraste entre as variáveis: distância  
263 narina-focinho ( $-0,96$ ), distância olho focinho ( $-0,19$ ) e distância olho narina ( $0,16$ ). Já  
264 o segundo componente (CP2) é explicado pelas variáveis distância olho-narina ( $0,69$ ),  
265 distância olho-focinho ( $0,45$ ) e distância interocular ( $0,34$ ); e o terceiro componente  
266 (CP3) pelo contraste entre as variáveis: diâmetro do olho ( $-0,56$ ), comprimento da  
267 cabeça ( $-0,35$ ) e comprimento vertical da cabeça ( $-0,34$ ) e distância olho narina ( $0,35$ )  
268 e distância olho-focinho ( $0,17$ ) (Tabela 3).

269 A maior variação da amostra testada está na forma, pois os dois primeiros  
270 componentes explicam a variação da forma e o terceiro componente explica a variação  
271 de tamanho.

272 Neste contexto, a análise dos escores no espaço reduzido dos dois primeiros  
273 componentes (Figura 3a) indica uma separação entre alguns grupos. Existe uma  
274 tendência da população de JAC se posicionar mais a esquerda do CP1 e a população da  
275 RNSM mais a direita deste. A relação das características com o CP1 indica que a  
276 primeira população apresenta um focinho mais curto e a narina anterior (maior DON e  
277 menor DNF e DOF). O inverso acontece com a população da RNSM, que apresenta um  
278 focinho mais longo e a narina posterior (menor DON e maior DNF e DOF)

279 As populações do PECE e ICN posicionaram-se mais próximas a porção positiva  
280 do CP2, o que indica que estas populações possuem maior DON, DIO, DOF e TRO e da

281 população da EEJ de se posicionar na porção negativa deste componente, com menor  
282 DON, DIO, DOF e TRO. Isto pode ser interpretado por indivíduos levemente maiores  
283 nas populações de PECE e ICN que na população da EEJ. A diferença entre as  
284 populações também pode ser dada por outros fatores como os relacionados no CP3  
285 (Figura 3b), que posiciona as populações de ICP e da RNSM na sua porção positiva e  
286 do PEIC, EEJ e JAC na sua porção negativa, indicando que as primeiras apresentam  
287 olhos menores (menor DO), a cabeça mais curta (resultado de menor CC e CVC) e  
288 narina anterior (maior DON). (Tabela 3).

289 A diferença entre as populações foi determinada pela análise de variáveis  
290 canônicas (CVA) que mostra uma não coincidência dos centróides (Figura 4), com a  
291 formação de quatro complexos: o primeiro formado pela população de ICP, ICN e  
292 PECE; o segundo pelas populações de EEJ e PEIC; o terceiro pela população de JAC e  
293 o quarto pela população de RNSM (Wilk's lambda = 0,17;  $F_{78/822} = 3,96$ ;  $P < 0,05$ ). O  
294 primeiro autovetor explica 38,2 % e o segundo 28,0 % da diferença entre as populações,  
295 sendo que as quatro características que mais contribuem para a primeira variável  
296 canônica 1 (CV1) são, em ordem decrescente: diâmetro do olho (DO) (-0,56), distância  
297 olho narina (DON) (0,54), comprimento da cabeça (CC) (-0,33) e comprimento vertical  
298 da cabeça (CVC) (-0,33) e para a segunda variável canônica (CV2) são: largura da  
299 cabeça (LC) (0,54), comprimento do pé (CP) (0,43), o comprimento do fêmur (CF) (-  
300 0,39) e a distância olho focinho (DOF) (-0,34) (Tabela 4, Figura 4).

### 301 Análise dos fatores climáticos

302 Pela análise dos componentes principais sete eixos foram obtidos na redução de  
303 espaço para as variáveis abióticas, sendo que os três primeiros componentes explicam  
304 96,69 % (Tabela 5) da variação total. O primeiro componente PC1 é formado pelo  
305 contraste entre a precipitação e a temperatura mensal, com as variáveis: variação da

306 temperatura mensal (0,295) e a precipitação do mês mais seco (- 0,288), e a precipitação  
307 do período mais seco (- 0,285) e do período mais frio (- 0,285). O segundo componente  
308 (CP2) é a resposta da temperatura em relação a variação, formado pela temperatura  
309 mínima do mês mais frio (- 0,333), a temperatura média do período mais úmido (-  
310 0,314), a temperatura máxima no mês mais quente (- 0,301), e a temperatura média  
311 anual (- 0,2985). O terceiro componente (CP3) é um gradiente de sazonalidade da  
312 temperatura (-0,525), a variação da temperatura anual (- 0, 439) e a sazonalidade da  
313 precipitação (-0,4051) (Tabela 5, Figura 5). A análise do primeiro componente (CP1)  
314 evidencia dois grupos: as localidades que possuem uma menor variação da temperatura  
315 durante o dia e o ano e que possuem um regime de chuvas mais intenso (PEIC e  
316 RNSM), e as localidades onde a variação da temperatura durante o ano e o dia não é  
317 intensa e o índice de pluviosidade é menor (EEJ, PECE e JAC). O segundo eixo permite  
318 identificar as localidades onde as temperaturas são menores (EEJ, PECE e PEIC) e onde  
319 são maiores (ICP e ICN). Já o terceiro eixo (CP3) distingue a população EEJ das demais  
320 pela regularidade da temperatura anual e chuvas mais homoganeamente distribuídas.

321 As variáveis morfológicas que se mostram relacionadas com os fatores  
322 climáticos são: CC ( $r = 0,26$ ,  $P < 0,01$ ), DO ( $r_s = 0,15$ ,  $P < 0,05$ ), DOF ( $r_s = 0,26$ ,  $P <$   
323  $0,01$ ), DNF ( $r_s = 0,21$ ,  $P < 0,01$ ) e CVC ( $r_s = - 0,27$ ,  $P < 0,001$ ) (Tabela 6). E as que  
324 mostram relação com o gradiente latitudinal norte - sul, são: LC ( $r_s = 0,18$ ,  $P < 0,05$ ),  
325 CC ( $r_s = - 0,23$ ,  $P < 0,001$ ), DO ( $r_s = - 0,23$ ,  $P < 0,01$ ), DON ( $r_s = 0,22$ ,  $P < 0,01$ ), DNF  
326 ( $r_s = - 0,19$ ,  $P < 0,05$ ), TRO ( $r_s = 0,22$ ,  $P < 0,05$ ) e CVC ( $r_s = - 0,32$ ,  $P < 0,001$ ) (Tabela  
327 6). As variáveis morfológicas não citadas não possuem relação com os fatores  
328 analisados.

329 As variáveis climáticas que possuem correlação com a latitude foram:  
330 isothermalidade ( $r_s = - 0,93$ ;  $P < 0,05$ ), sazonalidade da temperatura ( $r_s = 0,89$ ;  $P < 0,05$ ),

331 precipitação no período mais seco ( $r_s = 0,78$ ;  $P < 0,05$ ) e precipitação no período mais  
332 frio ( $r_s = 0,78$ ;  $P < 0,05$ ). O resultado do teste de Mantel parcial indica uma correlação  
333 entre a matriz climática e a geográfica ( $r = 0,66$ ;  $P < 0,05$ ) mas não indica que os fatores  
334 climáticos ( $r = - 0,28$ ;  $P > 0,05$ ) e/ou a distância geográfica ( $r = - 0,30$ ;  $P > 0,05$ )  
335 causam as variações morfológicas (Figura 6).

## 336 Discussão

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

344 As medidas que apresentam o maior coeficiente de variação e mais contribuem  
345 para a diferença morfológica entre as populações estão relacionadas com a forma da  
346 cabeça dos indivíduos (DNF, DON, DOF, DIO, DO e CC). O tamanho do corpo e o  
347 comprimento da cabeça já foram reconhecidos para outras espécies como sendo  
348 características importantes na diferenciação morfológica entre populações (Castellano &  
349 Giacoma, 2000; Méndez et al., 2004; Rosso et al., 2004; Silva et al., 2008). Porém, em  
350 alguns casos o tamanho do corpo pode não ser uma variável discriminatória importante  
351 (Puerto et al., 2001), como no caso destas populações de *P. spiniger*.

352 Os dados morfológicos de *P. spiniger* mostram que a cabeça e o tronco,  
353 respondem de forma modular e inversas, possivelmente causada pela dimensão  
354 aproximadamente constante do CRC.

355           Apesar das variáveis que trazem informações sobre a forma da cabeça (LC, CC,  
356 DIO, DOF, DNF e CVC) se apresentarem individualmente correlacionadas com os  
357 fatores climáticos, o teste de Mantel parcial aponta que a causa da variação morfológica  
358 das populações não está relacionada aos fatores climáticos nem a distância geográfica.  
359 A mesma condição foi observada entre a variação genética e geográfica de *E. nattereri*  
360 no cerrado brasileiro (Silva et al., 2008) e entre a variação morfológica e geográfica de  
361 *H. bischoffi* ao longo da Mata Atlântica (Marcelino et al., 2009). Da mesma forma que  
362 nos nossos estudos, *E. nattereri* apresentou correlação entre as matrizes de distâncias  
363 geográficas e macroambientais (nas quais foram considerados índices pluviométricos,  
364 temperatura média e umidade do ar), mas também não apresentou correlação entre a  
365 variação morfométrica e a variação genética (Silva et 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 (maior CC e CVC), olho mais  
369 alongado (maior DO) e quanto mais ao sul, a cabeça tende a ser mais larga (maior LC) e  
370 o tronco maior (maior TRO). Esta variação morfológica em relação a um gradiente  
371 norte-sul foi encontrada para outras espécies de anfíbios como em *R. spinulosa* no Chile  
372 (Méndez et al., 2004), onde quanto mais ao norte, menor é o tamanho do corpo das  
373 populações. Ou como em *H. bischoffi* (Marcelino et al., 2009) e cinco espécies do grupo  
374 de *R. crucifer* (Baldissera et al., 2004), para as quais no sentido norte-sul há uma  
375 diminuição do tamanho do corpo.

376           Se a variável que traz a informação do tamanho do corpo é o CRC, a população  
377 de *P. spiniger* não apresenta variação conforme o gradiente latitudinal. Porém, quando  
378 consideramos que o tamanho do corpo é a medida exclusiva do tronco do animal  
379 (medida do corpo excluída a cabeça) verificamos que as populações de *P. spiniger*

380 variam o tamanho do tronco conforme o gradiente latitudinal sendo que ao sul, as  
381 populações tendem a ter um tronco maior que ao norte, o que segue o encontrado para  
382 *R. spinulosa* (Méndez et al., 2004) e é oposto do encontrado para espécies da Mata  
383 Atlântica como *H. bischoffi* (Marcelino et al., 2009) e cinco espécies do grupo de *R.*  
384 *crucifer* (Baldissera et al., 2004). Porém é importante ressaltar que tanto no estudo  
385 realizado com *R. spinulosa spinulosa* (Méndez et al., 2004) como no realizado com *H.*  
386 *bischoffi* (Marcelino et al., 2009) e no das cinco espécies do grupo de *R. crucifer*  
387 (Baldissera et al., 2004), a medida considerada como tamanho do corpo foi o CRC.

388         A tendência dos organismos serem maiores em ambientes de temperaturas mais  
389 frias (Regra de Bergmann) (ver referências em Blanckenhorn & Demont, 2004) parece  
390 ser uma explicação consistente para variação do tamanho do tronco entre as populações  
391 de *Physalaemus spiniger*. O fato de não ter sido suficiente para explicar variações  
392 morfológicas entre populações de salamandras do gênero *Plethodon* (Adam & Church,  
393 2007) e algumas espécies de Mata Atlântica (Baldissera et al., 2004, Marcelino et al.,  
394 2009) pode ser porque, em todos estes casos o tamanho de corpo foi considerado como  
395 o CRC, e não o tamanho do tronco.

396         Em anfíbios o tamanho do corpo do adulto depende de vários fatores como o  
397 tempo de metamorfose, crescimento antes e depois da maturidade, idade de maturidade  
398 e longevidade (Rosso et al., 2004). No entanto, diferenças genéticas e ambientais podem  
399 causar diferenças no desenvolvimento ontogenético o que resulta na variação do  
400 tamanho corporal (Silva et al., 2008). A influência da temperatura no desenvolvimento  
401 do tamanho do corpo foi relatado para algumas espécies de anfíbios e experimentos  
402 apontam que o desenvolvimento em temperaturas baixas resultam em tamanho de corpo  
403 maior (ver referencias em Aston, 2002). No entanto, as localidades onde as populações  
404 de *P. spiniger* foram analisadas não apresentam um gradiente com relação a

405 temperatura, somente com relação a isothermalidade e a sazonalidade da temperatura,  
406 indicando que quanto mais ao sul, maior é a variação da temperatura ao longo do dia,  
407 em relação ao ano, mas também é maior a variação de temperatura ao longo do ano.

408 A explicação para o tamanho de corpo em locais de temperaturas mais frias,  
409 proposta por Bergmann para animais endotérmicos, pode ser adaptada para os  
410 ectotérmicos, tendo como principal explicação a adaptação termorregulativa (Aston  
411 2002). A relação perímetro-área dos ectotérmicos é favorecida porque indivíduos  
412 maiores podem armazenar mais gordura e usar essas reservas para aumentar a  
413 sobrevivência durante o estresse sazonal (temperaturas baixas). Levando em conta que a  
414 variação de temperatura média entre as localidades avaliadas não é maior que 1,5°C,  
415 podemos concluir que quanto mais ao sul, as populações de *P. spiniger* enfrentam  
416 extremos de temperatura durante o ano, apesar da temperatura ser mais constante ao  
417 longo do dia. Neste sentido, o tamanho de tronco maior nas populações ao sul pode ser  
418 uma resposta adaptativa destas populações ao estresse sazonal.

419 Ainda, relações entre a largura da boca e o tamanho das presas são consagradas  
420 na literatura e vem sendo tratado há várias décadas (Toft 1981). Como a diferença entre  
421 as populações de *P. spiniger* são substancialmente na forma da cabeça é possível que  
422 esta diferença da forma da cabeça seja fruto de seleção que tenha ocorrido no sentido da  
423 habilidade de alimentação, que pode ser distinta e variável quanto a disponibilidade de  
424 presas ou mesmo quanto a especialização das populações em adquirir uma ou outra  
425 espécie de presa. Um modelo biométrico de relação entre forma da cabeça e nicho  
426 alimentar para anuros prevê que: espécies adaptadas a predação presas grandes e lentas ou  
427 presas rápidas apresentam mandíbulas longas e cabeça larga (Emerson, 1985). Este  
428 modelo vem da relação entre a largura da cabeça e o assoalho da língua. O assoalho da  
429 língua está relacionado com a velocidade de protusão da língua, que é importante para

430 espécies que predam presas rápidas, e a força da protusão da língua é importante para  
431 espécies que predam presas grandes (Emerson, 1985).

432 As características de largura e comprimento da cabeça também variam de acordo  
433 com o gradiente latitudinal, sendo que quanto mais ao norte, as populações de *P.*  
434 *spiniger* tendem a ter a cabeça mais alongada e ao sul, mais alargada. Desta forma,  
435 seguindo a prescrição do modelo biométrico citado acima, populações com cabeça larga  
436 podem estar adaptadas a preda presas grandes e assim, maior a capacidade de manter  
437 reservas e de sobrevivência em temperaturas baixas. Assim, é possível que a variação  
438 geográfica observada seja produto de adaptações locais a disponibilidade de presas e a  
439 respostas fisiológicas.

440

441 Agradecimentos:

442 Agradecemos a Capes, Fapesp (proc. no. 2008/50325-5 e 2008/52847-9) e CNPq  
443 (proc. no. 312357/2006-0), pelo auxílio e pelas bolsas de estudos. Aos curadores das  
444 coleções CFBH, MHNCI, MZUSP e ZUEC pelo acesso as coleções e a FBPN pelo  
445 apoio logístico. Licença de coleta ICMBio (licença nº 16461-1, código de autenticação  
446 24171151).

447 Referências

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

449 Evolution 62-2:413–420.

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

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

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

- 453 Baldissera, F. A., Caramaschi U. & C. F. B. Haddad 2004. Review of the *Bufo crucifer*  
454 species group, with descriptions of two new related species (Amphibia, Anura,  
455 Bufonidae). Arquivos do Museu Nacional 62:255–282.
- 456 Benitez-Díaz, H. 1993. Geographic variation in coloration and morphology of the acorn  
457 woodpecker. The Condor 95:63-71.
- 458 Bonnet, E., & Y. V. Peer 2002. ZT: a software tool for simple and partial Mantel tests.  
459 Journal of Statistical software 7(10):1-12.
- 460 Blanckenhorn, W.U. & Demont M. 2004. Bergmann and Converse Bergmann  
461 Latitudinal Clines in Arthropods: Two Ends of a Continuum? Integrative and  
462 Comparative Biology 44:413–424 1
- 463 Castellano S. & C. Giacoma 2000. Morphometric and advertisement call geographic  
464 variation in polyploid green toads. Biological Journal of the Linnean Society  
465 70:341-360.
- 466 Cepagri - Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura  
467 ([http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-](http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html)  
468 paulistas.html).
- 469 Cruz, A. G. C., Nascimento, L. B. & R. N. Feio 2007. A new specie of the genus  
470 *Physalaemus* Fitzinger 1826 (Anura: Leuiperidae) from southeastern Brasil.  
471 Amphibia-Reptilia 28:457-465.
- 472 Emerson, S.B. 1985 Skull Shape in Frogs: Correlations with Diet. Herpetologica  
473 41(2):177-188.
- 474 FBPN, 2001. Fundação O Boticário de Proteção da Natureza. Reserva Natural Salto  
475 Morato - Plano de Manejo. Versão preliminar. São José dos Pinhais.
- 476 Frost, D. R. 2009. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 5.3  
477 (12 February, 2009). Electronic Database accessible at

- 478 <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/American Museum of Natural>  
479 History, New York, USA.
- 480 Funk, W.C., Angulo, A., Cadwell, J.P., Ryan, M., & D.C. Cannatella 2008. Comparison  
481 of morphology and calls of two cryptic species of *Physalaemus* (Anura:  
482 Leiuperidae). *Herpetologica* 64(3):290–304.
- 483 Gould, S.J. & R.F. Johnston. 1972. Geographic variation. *Annual Review of Ecology,*  
484 *Evolution, and Systematics* 3:457-498.
- 485 Haddad, C. F. B. & J. P. Pombal Jr 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger*  
486 (Anura: Leptodactylidae) and descriptions of two new reproductive modes.  
487 *Journal of Herpetology* 32(4):557- 565.
- 488 Hammer, Ø. Harper, D. A. T., & P. D. Ryan 2001. PAST: Paleontological statistics  
489 software package for education and analysis. *Paleontologia Electronica* 4(1):9.
- 490 Hayek, L. C. & W. R. Heyer 2001. Frog morphometrics: a cautionary tale. *Alytes* 18(3-  
491 4): 153-177.
- 492 Hayek, L. C., & W. R. Heyer 2005. Determining sexual dimorphism in frog  
493 measurement data: integration of statistical significance, measurement error,  
494 effect size and biological significance. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*  
495 77(1):45-76.
- 496 Hijimans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & A. Jarvis 2005. Very high  
497 resolution 230 interpolated climate surfaces for global land areas. *International*  
498 *Journal of Climatology* 25:1965–1978.
- 499 Instituto Florestal - [http://www.iflorestal.sp.gov.br/unidades\\_conservacao/busca.asp](http://www.iflorestal.sp.gov.br/unidades_conservacao/busca.asp)
- 500 Legendre, P. & L. Legendre 1998. Numerical ecology. 2nd English edition. Elsevier  
501 Science BV, Amsterdam. xv + 853 pages.

- 502 Manly, B. J. 1994. *Multivariate Statistical Methods: A primer*. Chapman & Hall,  
503 London. 215p.
- 504 Marcelino, V. R.; Haddad, C. F. B., & J. Alexandrino 2009. Geographic distribution and  
505 morphological variation of striped and nonstriped populations of the Brazilian  
506 Atlantic Forest treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). *Journal of*  
507 *Herpetology* 43(2):351–361.
- 508 Méndez, M. A., Soto, E. R., Correa, C., Veloso, A., Vergara, E., Sallaberry, M., & P.  
509 Iturra 2004. Morphological and genetic differentiation among Chilean  
510 populations of *Bufo spinulosus* (Anura: Bufonidae) *Revista Chilena de Historia*  
511 *Natural* 77:559-567.
- 512 Morrison, D. F. 1976. *Multivariate Statistical Methods*. McGraw-Hill, Nova York.
- 513 Napoli, M. F., & U. Caramaschi 1999a. Geographic variation of *Hyla rubicundula* and  
514 *H. anataliasiasi*, with the description of a new species (Anura, Hylidae). *Alytes*  
515 16(3-4): 165-189
- 516 Napoli, M. F. & U. Caramaschi 1999 b. Variation and description of two new Brazilian  
517 *Hyla* of the *H. tritaeniata* complex (Amphibia, Anura, Hylidae). *Boletim do*  
518 *Museu Nacional* (407):1-11.
- 519 Peres-Neto P. R. 1995. *Introdução a Análises morfométricas*. *Oecologia Brasiliensis*.  
520 Volume II: Tópicos em Tratamentos de Dados Biológicos. Peres- Neto, P.R.;  
521 Valentini, J. L. & Fernandez F. A. S. (Editores) p.57-89. Rio de Janeiro-RJ.
- 522 Puerto, G., Da Grace, M., Salomão A. O., Theakston, R. D. G., Thorpe, R. S., Warrell  
523 D. A. & W. Wuèster 2001. Combining mitochondrial DNA sequences and  
524 morphological data to infer species boundaries: phylogeography of lanceheaded  
525 pitvipers in the Brazilian Atlantic forest, and the status of *Bothrops pradoi*  
526 (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Journal of Evolutionary Biology* 14:527-538.

- 527 Reis S. F. 1988. Morfometria e estatística multivariada em biologia evolutiva. Revista  
528 Brasileira de Zoologia 5(4):571-580.
- 529 Rohlf, F. J & Marcus, L. F. (1993) - A revolution in morphometrics. Trends Ecology  
530 and Evolution 8: 129–132.
- 531 Rosso, A., Castellano, S., & C. Giacoma 2004. Ecogeographic analysis of  
532 morphological and life-history variation in the Italian treefrog. Evolutionary  
533 Ecology 18:303–321.
- 534 Silva, D. M., Cruz A. D., Bastos, R. P., Telles, M. P. C., & J. A. F. Diniz-Filho 2008.  
535 Morphometric and genetic differentiation among populations of *Eupemphix*  
536 *nattereri* (Amphibia, Anura, Leiuperidae) from central Brazil. Iheringia 98:493-  
537 500.
- 538 Toft, C. A. 1981 Feeding ecology of Panamanian litter anurans: Patterns in diet and  
539 Foraging mode. Journal of Herpetology 15(2):139-144.
- 540 Wüster, W. Otsuka, S., Thorpe, R. S., & A. Malhotra 1992. Morphological variation in  
541 russell's viper in Burma and Thailand. Herpetological Journal 2:9-101.
- 542 Zar J.H. 1999. Biostatistical Analysis. 4th edition. Prentice Hill.

543 TABELA 1 – Localidades de ocorrência de *P. spiniger* utilizadas neste estudo, com sua localização geográfica (graus decimais), clima  
 544 (segundo Köppen) e 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

545

546 TABELA 2 – Valores das medidas morfológicas dos indivíduos de *P. spiniger* medidos nas populações analisadas. Os valores são  
 547 apresentados como média  $\pm$  desvio padrão; coeficiente de variação (desvio padrão/média). N (indivíduos medidos). Os acrônimos das  
 548 localidades estão na tabela 1 e as siglas das medidas nos métodos.

	ICN	PEIC	EEJ	ICP	JAC	PECE	RNSM
N	9	23	30	10	33	20	42
CRC	2,28 $\pm$ 0,03; 1,32	2,28 $\pm$ 0,03; 1,32	2,26 $\pm$ 0,03; 1,33	2,25 $\pm$ 0,02; 0,89	2,27 $\pm$ 0,04; 1,76	2,28 $\pm$ 0,04; 1,75	2,29 $\pm$ 0,03; 1,31
LC	1,81 $\pm$ 0,02; 1,1	1,8 $\pm$ 0,01; 0,56	1,8 $\pm$ 0,02; 1,11	1,79 $\pm$ 0,02; 1,12	1,8 $\pm$ 0,03; 1,67	1,8 $\pm$ 0,04; 2,22	1,81 $\pm$ 0,03; 1,66
CC	1,86 $\pm$ 0,03; 1,61	1,86 $\pm$ 0,03; 1,61	1,84 $\pm$ 0,02; 1,09	1,84 $\pm$ 0,02; 1,09	1,84 $\pm$ 0,03; 1,63	1,85 $\pm$ 0,03; 1,62	1,86 $\pm$ 0,02; 1,08
CF	1,97 $\pm$ 0,02; 1,02	1,96 $\pm$ 0,02; 1,02	1,95 $\pm$ 0,02; 1,03	1,95 $\pm$ 0,01; 0,51	1,95 $\pm$ 0,02; 1,03	1,96 $\pm$ 0,02; 1,02	1,97 $\pm$ 0,02; 1,02
CT	1,98 $\pm$ 0,03; 1,52	1,97 $\pm$ 0,03; 1,52	1,96 $\pm$ 0,01; 0,51	1,96 $\pm$ 0,01; 0,51	1,96 $\pm$ 0,02; 1,02	1,97 $\pm$ 0,02; 1,02	1,97 $\pm$ 0,02; 1,02
CP	1,96 $\pm$ 0,04; 2,04	1,94 $\pm$ 0,04; 2,06	1,94 $\pm$ 0,03; 1,55	1,94 $\pm$ 0,02; 1,03	1,96 $\pm$ 0,03; 1,53	1,97 $\pm$ 0,03; 1,52	1,97 $\pm$ 0,02; 1,02
DO	1,33 $\pm$ 0,05; 3,76	1,33 $\pm$ 0,05; 3,76	1,34 $\pm$ 0,06; 4,48	1,34 $\pm$ 0,06; 4,48	1,36 $\pm$ 0,05; 3,68	1,38 $\pm$ 0,03; 2,17	1,36 $\pm$ 0,04; 2,94
DIO	1,37 $\pm$ 0,05; 3,65	1,35 $\pm$ 0,05; 3,7	1,32 $\pm$ 0,06; 4,55	1,29 $\pm$ 0,06; 4,65	1,28 $\pm$ 0,06; 4,69	1,28 $\pm$ 0,05; 3,91	1,3 $\pm$ 0,05; 3,85
DON	1,24 $\pm$ 0,04; 3,23	1,21 $\pm$ 0,07; 5,79	1,2 $\pm$ 0,08; 6,67	1,18 $\pm$ 0,08; 6,78	1,15 $\pm$ 0,08; 6,96	1,15 $\pm$ 0,11; 9,57	1,16 $\pm$ 0,11; 9,48
DOF	1,43 $\pm$ 0,02; 1,4	1,41 $\pm$ 0,05; 3,55	1,4 $\pm$ 0,05; 3,57	1,39 $\pm$ 0,05; 3,6	1,38 $\pm$ 0,06; 4,35	1,4 $\pm$ 0,06; 4,29	1,4 $\pm$ 0,06; 4,29
DNF	0,99 $\pm$ 0,1; 10,1	0,97 $\pm$ 0,11; 11,34	0,96 $\pm$ 0,1; 10,42	0,95 $\pm$ 0,1; 10,53	0,99 $\pm$ 0,12; 12,12	0,98 $\pm$ 0,2; 20,41	0,99 $\pm$ 0,2; 20,2
TRO	1,13 $\pm$ 0,04; 3,54	1,13 $\pm$ 0,04; 3,54	1,12 $\pm$ 0,04; 3,57	1,11 $\pm$ 0,02; 1,8	1,12 $\pm$ 0,04; 3,57	1,14 $\pm$ 0,04; 3,51	1,15 $\pm$ 0,04; 3,48
CVC	0,87 $\pm$ 0,03; 3,45	0,87 $\pm$ 0,03; 3,45	0,85 $\pm$ 0,02; 2,35	0,85 $\pm$ 0,02; 2,35	0,86 $\pm$ 0,03; 3,49	0,86 $\pm$ 0,03; 3,49	0,87 $\pm$ 0,02; 2,3

549

550 TABELA 3 – Escores das medidas morfométricas de indivíduos de *P. spiniger* de sete  
 551 populações em relação a cada componente, os autovalores de cada componente  
 552 principal, a porcentagem de explicação e a explicação acumulada dos componentes,  
 553 resultantes da análise de componentes principais, a partir da matriz de dados de  
 554 variância e covariância.

	CP 1	CP 2	CP 3
CRC	-0,019	0,180	-0,295
LC	-0,022	0,175	-0,180
CC	-0,031	0,132	-0,348
CF	0,008	0,116	-0,150
CT	-0,009	0,115	-0,182
CP	-0,025	0,143	-0,219
DO	-0,054	0,144	-0,560
DIO	0,031	0,342	0,113
DON	0,160	0,692	0,351
DNF	-0,965	0,007	0,099
DOF	-0,189	0,455	0,171
TRO	-0,010	0,197	-0,228
CVC	-0,028	0,103	-0,339
Autovalor	0,028	0,005	0,003
% variancia	61,70	12,00	7,35
variação acumulada (%)	61,70	73,70	81,05

555

556

557 TABELA 4 – Autovetores para cada eixo resultantes da análise de variáveis canônicas a  
558 partir da matriz de dados de medidas morfológicas de sete populações de *Physalaemus*  
559 *spiniger*.

	CV 1	CV 2
CRC	-0,04	0,16
LC	0,17	0,54
CC	-0,33	0,02
CF	-0,06	-0,39
CT	-0,16	-0,14
CP	-0,12	0,43
DO	-0,56	-0,02
DIO	0,32	-0,23
DON	0,54	-0,20
DNF	-0,05	0,10
DOF	-0,02	-0,34
TRO	0,02	0,21
CVC	-0,33	-0,25

560

561 TABELA 5 – Escores dos fatores abióticos para cada uma das localidades estudadas em  
 562 relação a cada componente, os autovalores, a porcentagem de explicação e a explicação  
 563 cumulativa dos componentes, resultantes da análise de componentes principais, a partir  
 564 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

565

566

567 TABELA 6 – Correlação de Spearman entre as medidas morfológicas dos indivíduos de  
 568 *P. spiniger* e a latitude e a variável “clima” proveniente do CP1 que representa 99% da  
 569 variação entre as sete localidades analisadas. NS = não significativo.

	Clima		Latitude	
	r	P	rs	P
CRC	0,05	NS	0,03	NS
LC	0,13	NS	0,18	0,019
CC	0,26	0,0009	-0,23	0,003
CF	0,01	NS	-0,59	NS
CT	-0,12	NS	0,01	NS
CP	0,07	NS	0,11	NS
DO	0,15	0,047	-0,23	0,002
DIO	0,11	NS	0,02	NS
DON	0,02	NS	0,22	0,005
DOF	0,26	0,0007	-0,05	NS
DNF	0,21	0,007	-0,19	0,017
TRO	-0,10	NS	0,22	0,004
CVC	-0,27	0,0004	-0,32	0,000002

570

571 Legenda das figuras:

572 FIG. 1 – Esquema representativo das medidas morfológicas registradas nos indivíduos de  
573 *Physalaemus spiniger*. Desenho adaptado de Cruz et al 2007. A) visão dorsal de um  
574 indivíduo inteiro, indicando as medidas: CRC - comprimento rostro-cloacal; CVC –  
575 comprimento vertical da cabeça; TRO – tronco; CC - comprimento da cabeça; LC -  
576 largura da cabeça; CP - comprimento do pé (do calo metatarsal interno até a ponta do  
577 dedo mais longo); CT - comprimento da tíbia; CF - comprimento do fêmur; B) visão  
578 dorsal da cabeça, indicando as medidas DIO - distância inter-ocular; DO - diâmetro do  
579 olho; DOF - distância olho-focinho; DON - distância olho-narina; DNF -distância  
580 narina-focinho ( $DNF = DOF - DON$ ).

581

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

589

590 FIG. 3– Análise dos componentes principais das variáveis morfométricas, em matriz de  
591 dados de variância e covariância. A) Componentes 1 e 2 e B) Componente 2 e 3. Os  
592 eixos apresentam a porcentagem de explicação de cada um dos componentes. Cada  
593 elipsóide representa a distribuição de 95% dos pontos de cada uma das populações  
594 analisadas. ICN – Ilha de Cananéia, ICP – Ilha Comprida, PEIC – Parque Estadual Ilha

595 do Cardoso, RNSM – Reserva Natural Salto Morato, PECE - Parque Estadual Campina  
596 do Encantado, EEJ – Estação Ecológica da Juréia, JAC- Jacupiranga.

597

598 FIG. 4– Análise das variáveis canônicas com base em matriz de dados morfológicos de  
599 *P. spiniger*. Cada elipsóide representa a distribuição de 95% dos pontos de cada uma  
600 das populações analisadas no espaço multivariado.

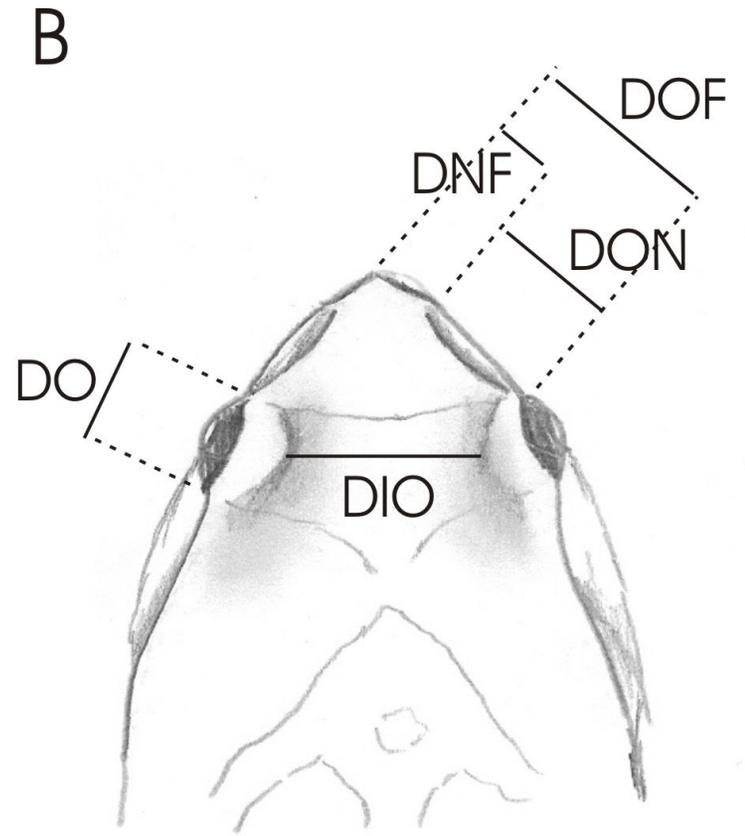
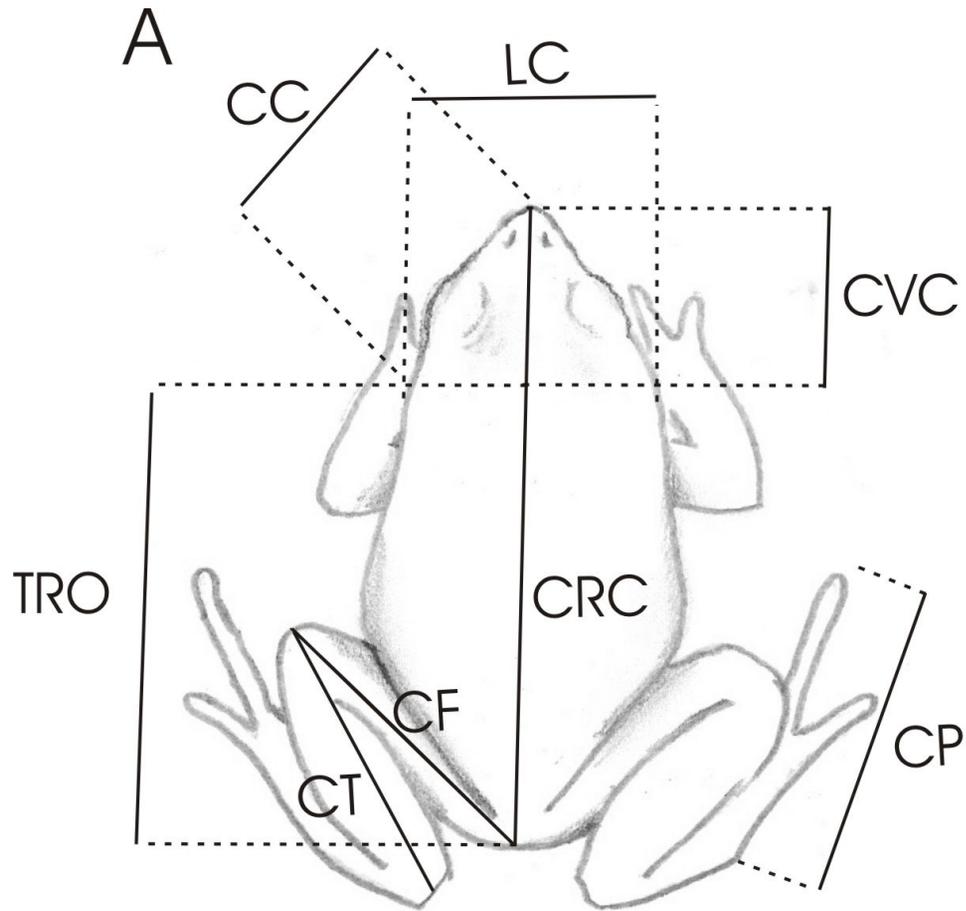
601

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

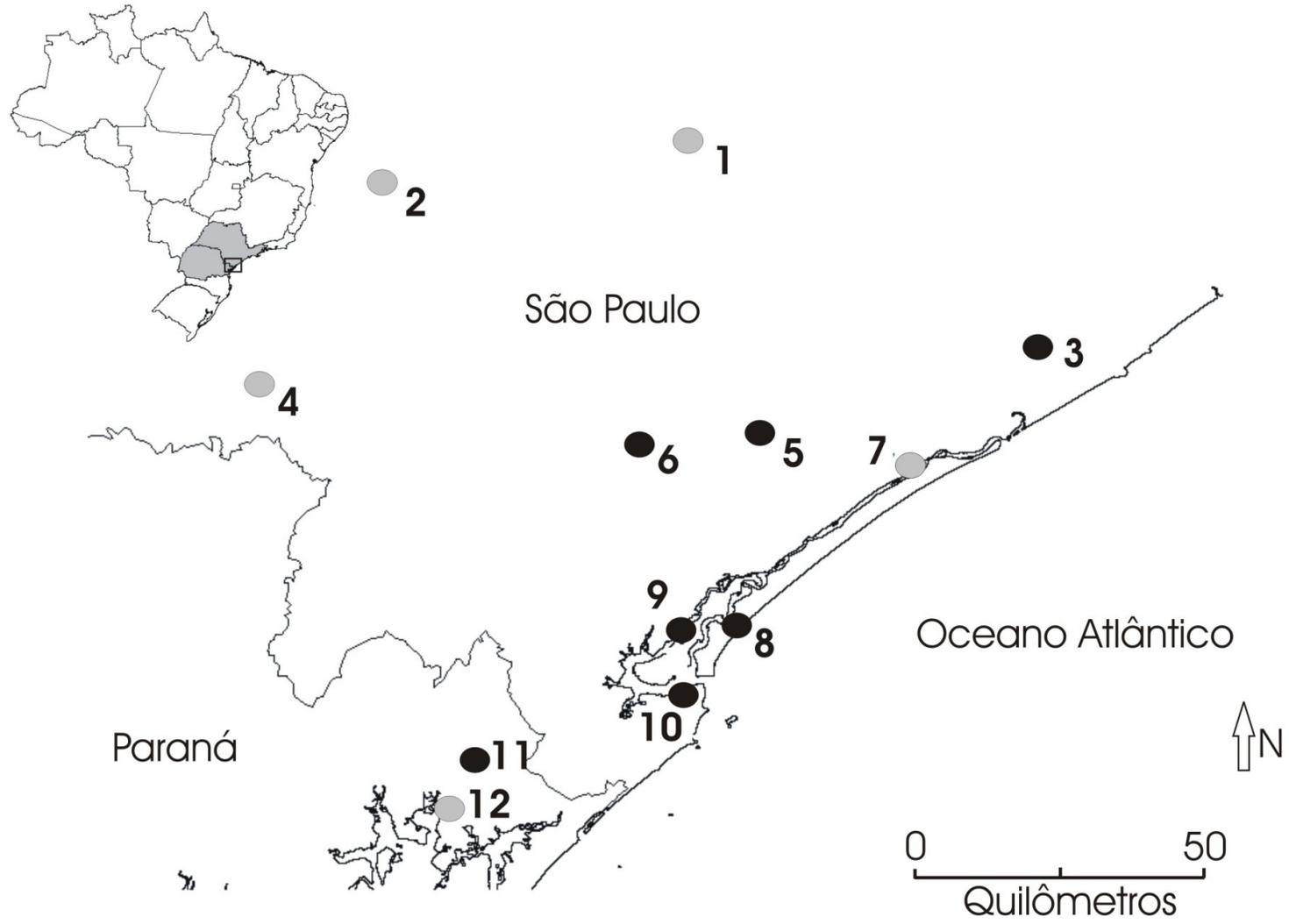
609

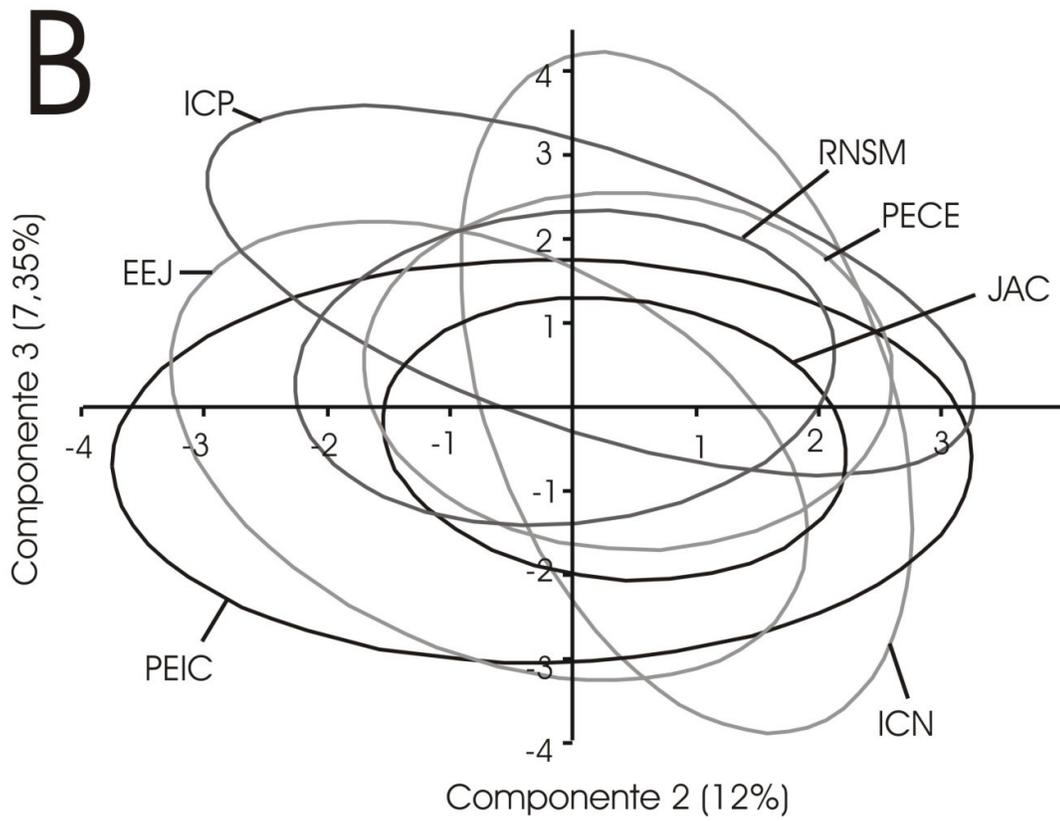
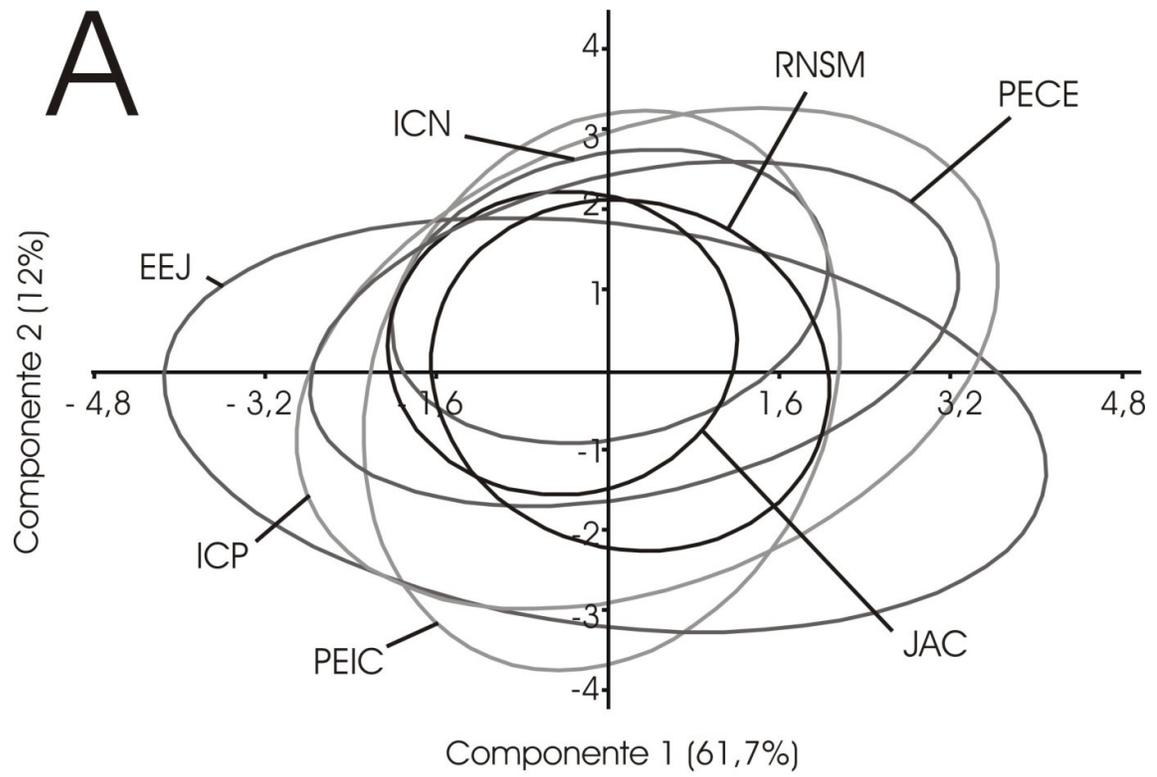
610 FIG.6 – Representação gráfica do resultado do teste de Mantel. A correlação entre as  
611 matrizes de dissimilaridade física (Morfologia), distância geográfica (Geografia) e  
612 dissimilaridade climática (Clima).

613 FIG. 1

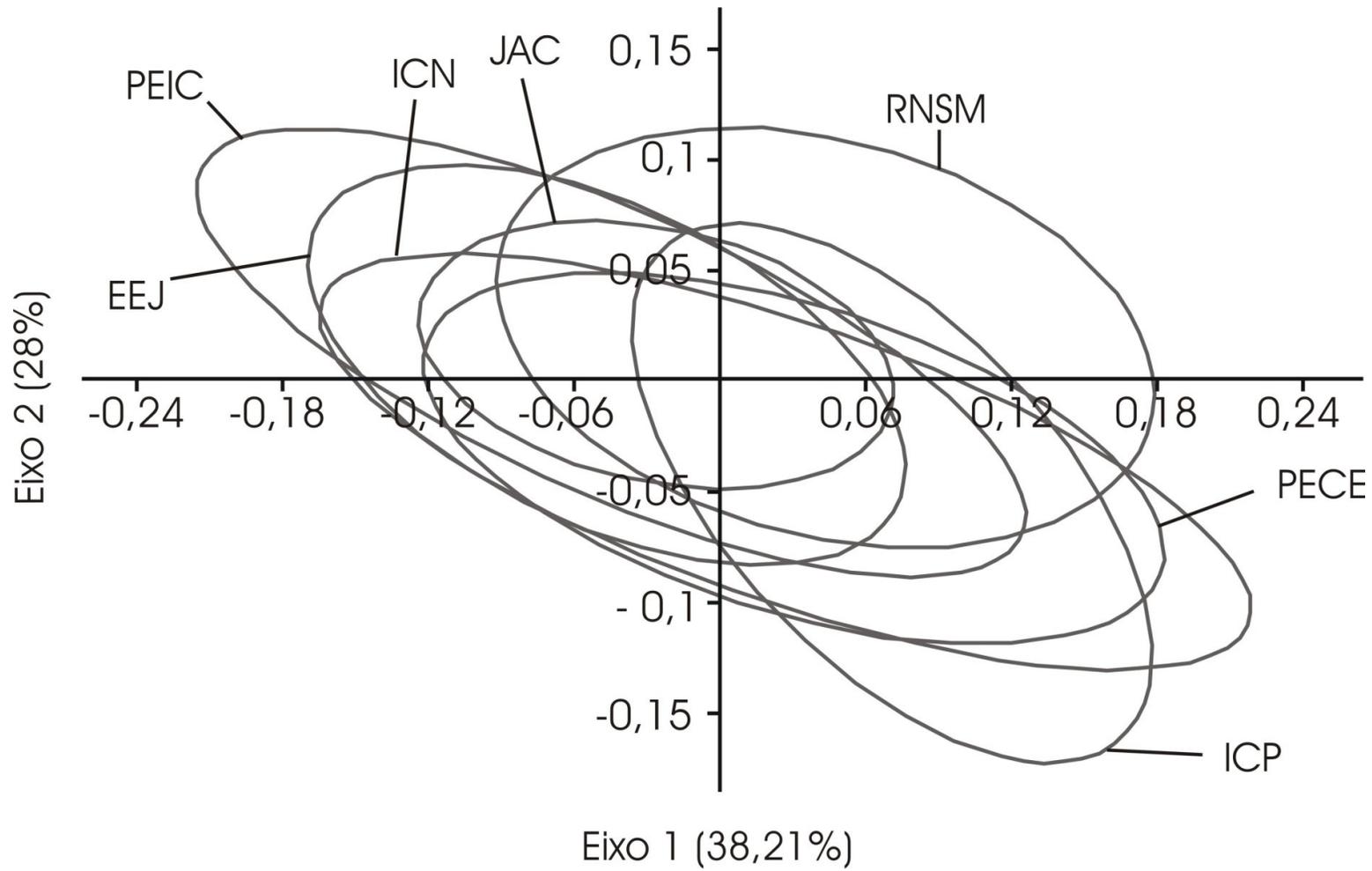


615 FIG. 2



616 **FIG. 3**

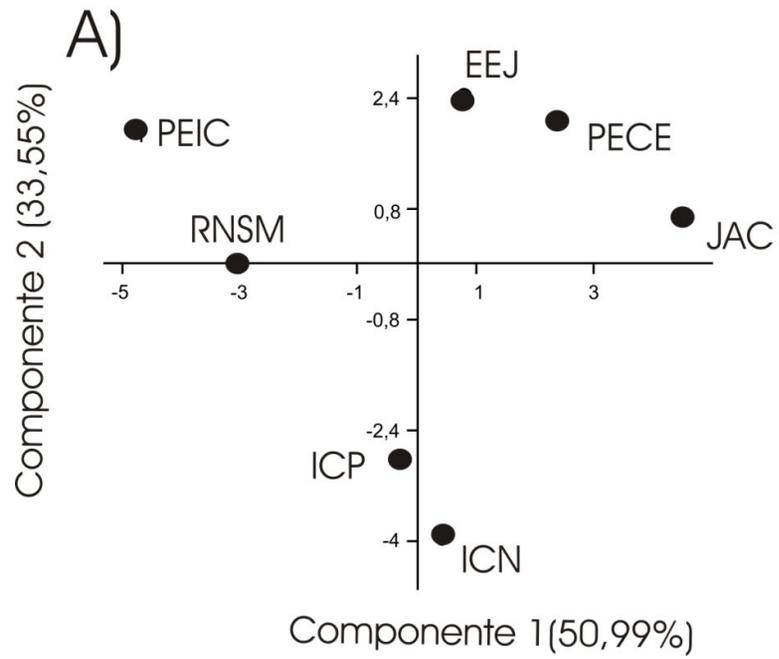
618 FIG. 4



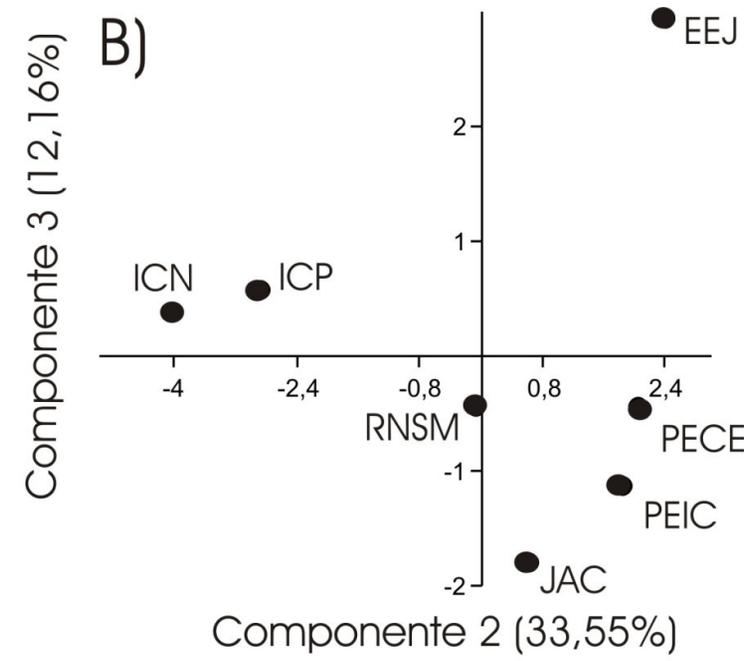
619

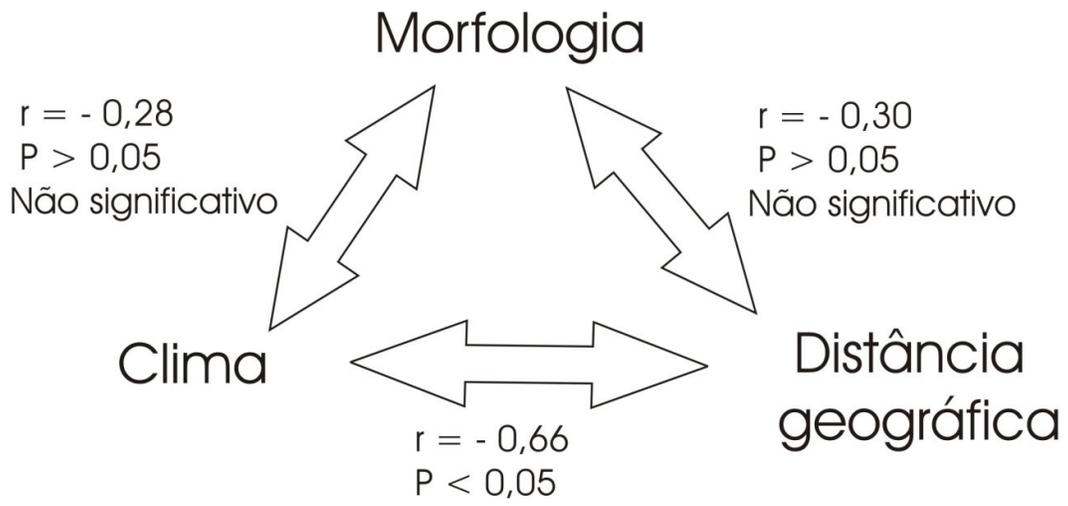
620 **FIG.5-**

621



622



623 **FIG 6**

624

625

626

627 Author Addresses:

628

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

632

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

636

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

640

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

642

643 Anexo I

644 Coleções consultadas, procedência e número de tombo dos exemplares de *P. spiniger*  
645 medidos.

646

647 **CFBH** (EEJ): 307-10, 410, 833, 835, 1246, 12484-88;12490-94; 13524, 13800-01,  
648 13806; (PEIC): 312-13; 315-17; 319-21, 4907, 6353, 7252, 7924, 10693-94; 12489;  
649 (INC): 14899, 14901, 14902, 15800-01, 18865-66, 18997; (PECE): 14903, 15799-803,  
650 17021, 17043, 17070-74, 17078, 17080-81, 17122, 17819, 17823, 17839, 18865-66,  
651 18923-24, 18926-28, 18997, 19091; (ICP): 15803, 17043, 17122, 17819, 17823, 17839,  
652 19130, 19600 – **MHNCI** (RNSM): 4808-10, 4926 – **MZUSP** (EEJ): 76562, 82404;  
653 (JAC): 85095- 96, 85098-03, 85105-27 – **ZUEC** (JAC): 924, 3250; (PEIC): 6371-72,  
654 6878-82; (EEJ): 9757, 9807-08, 9818; (PECE): 14525; (ICP): 14526-27; (RNSM):  
655 12518, 14508-24, 14555-60, 14562-69, 14572-78.

1 **Capítulo 3 - Biologia reprodutiva de *Physalaemus spiniger* (Anura, Leiuperidae),**  
2 **com a descrição de uma adaptação de um dos modos reprodutivos.**

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, 14 and 28. We studied a population  
19 of the county of Guaraqueçaba, Paraná, Southern Brazil. In that population we observed  
20 a variation in a reproductive mode number 14, which consists of a foam nest with eggs  
21 and early larval stages in holes in the ground, and subsequent to flooding, exotrophic  
22 tadpoles developing in ponds. The holes 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 were  
29 amplexed by larger males available. The courtship behavior is also described for the  
30 first time. After oviposition females still presented immature eggs in different stages in  
31 the abdomen. This could suggest that this species makes multiple clutches. This would  
32 increase the female reproductive success by making clutches at different sites and with  
33 different males. It is certainly the Leiuperidae species with the highest levels of  
34 reproductive plasticity already reported.

35

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

38

## 39 Resumo

40 *Physalaemus spiniger* (Miranda Ribeiro, 1926), pertence ao grupo de espécies de *P.*  
41 *signifer* e para esta espécie são conhecidos três modos reprodutivos: 11, 14 e 28.  
42 Estudamos a população de Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. Nesta população observamos  
43 uma variação do modo reprodutivo de número 14, que consiste em ovos e larvas em  
44 ninhos de espuma em depressões no solo e as larvas se desenvolvem na poça após a  
45 inundação. As depressões que a espécie utiliza foram formadas por queda de vegetação  
46 ou drenagem de água. As observações em campo foram feitas tanto no período noturno  
47 como no período diurno entre agosto de 2008 e agosto de 2009. Machos vocalizaram  
48 com maior frequência durante a noite, mas também foram observados em atividade de  
49 vocalização durante todo o dia em dias chuvosos, ou em dias após chuvas intensas a  
50 noite. O amplexo é axilar e a razão de tamanho de um casal é de 0,96. As desovas  
51 possuem em média 70 ovos com cerca de 1,5 mm de diâmetro. O sucesso de fecundação  
52 é de 94 %. Não foi encontrada correlação entre o comprimento rostro-cloacal das  
53 fêmeas e a quantidade de óvulos depositados. Os machos são menores que as fêmeas e  
54 as fêmeas foram amplexatadas por machos pelos maiores machos disponíveis. Foi  
55 descrito um comportamento de corte elaborado, inédito para a família, incluindo, pelo  
56 menos, comunicação sonora e tátil. Após a desova as fêmeas permaneceram com óvulos  
57 em diferentes estágios de desenvolvimento nos ovários, indicando que a espécie pode  
58 apresentar uma estratégia de múltiplas desovas por estação reprodutiva. Tal estratégia  
59 pode conferir um acréscimo no sucesso reprodutivo, uma vez que permite as fêmeas  
60 realizar postura em diferentes locais e com diferentes machos. Certamente é a espécie  
61 da família Leiuperidae que possui maior plasticidade reprodutiva conhecida.

62

63 Palavras chave: Anura, comportamento, *Physalaemus*, reprodução, modos reprodutivos.

## 64 Introdução

65 O gênero *Physalaemus* está inserido na família Leiuperidae (Grant et al., 2006) e  
66 é composto atualmente por 42 espécies, divididas em sete grupos: *P. albifrons* (quatro  
67 espécies), *P. cuvieri* (nove espécies), *P. deimaticus* (três espécies), *P. gracilis* (cinco  
68 espécies), *P. henselii* (três espécies), *P. olfersii* (cinco espécies) e *P. signifer* (13  
69 espécies) (Nascimento et al., 2005; Pimenta et al., 2005; Weber et al., 2005; Cruz et al.,  
70 2007).

71 Neste gênero o amplexo é axilar e a desova é realizada em ninhos de espuma  
72 com as larvas se desenvolvendo em corpos d'água lênticos (Brasileiro & Martins,  
73 2006). O padrão de comportamento reprodutivo do gênero *Physalaemus* pode variar de  
74 explosivo (Wells, 1977), como em *P. marmoratus* (Reinhardt and Lütken, 1862)  
75 (Brasileiro & Martins, 2006), a prolongado (Wells, 1977), como em *P. cuvieri* Fitzinger,  
76 1826 (Barreto & Andrade, 1995; Brasileiro & Martins, 2006).

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

85 *Physalaemus spiniger* (Miranda Ribeiro, 1926) pertence ao grupo *P. signifer*.  
86 Foi descrita em 1926 por Miranda-Ribeiro sob o nome de *Engystomops spinigera*, tendo  
87 como localidade tipo o município de Iguape, estado de São Paulo, Brazil. Foi re-descrita  
88 por Haddad & Pombal (1998), os quais reconheceram e descreveram três modos

89 reprodutivos para a espécie: modo 11 (Haddad & Prado, 2005), ninhos de espuma  
90 depositados em poças de água e girinos exotróficos desenvolvendo nas mesmas poças;  
91 modo 14 (Haddad & Prado, 2005), ninho de espuma depositado em água acumulada nas  
92 axilas de bromélias terrestres e com girinos exotróficos se desenvolvendo nas poças; e  
93 modo 28 (Haddad & Prado, 2005), ninho de espuma depositados em locais úmidos no  
94 chão da floresta, próximo à poças, nas quais os girinos exotróficos se desenvolvem.  
95 Além destas informações, nada mais está disponível sobre a biologia da espécie.

96        Desta forma, o presente estudo visou observar uma população natural de *P.*  
97 *spiniger* para obter informações sobre sua biologia reprodutiva. Foi testado dimorfismo  
98 sexual e descritos os comportamentos durante a atividade de vocalização e postura de  
99 ovos, características do ovo e da desova, observados modos reprodutivos e relações  
100 alométricas e de fecundidade das fêmeas.

## 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 Köeppen (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 freqüentes 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 sobre a precipitação, temperatura média e umidade relativa do ar  
124 mensais durante o período de estudo (janeiro de 2008 a julho de 2009) foram obtidas  
125 junto ao Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), estação de Guaraqueçaba, Paraná,  
126 Brasil. A precipitação média mensal foi de  $8,30 \pm 5,6$  mm (1,1 – 24,1), a temperatura  
127 média mensal foi de  $20,5 \pm 3$  ° C (15,6 – 24,6) e a umidade relativa do ar média foi de  
128  $88 \pm 2$  % (83,7 – 93,8). O período mais seco foi entre os meses de abril a julho de 2008  
129 e de abril a junho de 2009, com média menor que 5 mm. O período mais frio foi entre  
130 os meses de maio a setembro de 2008 e junho e julho de 2009 com temperaturas médias  
131 abaixo dos 18 °C. O período de menor umidade relativa foram os de maio de 2008 e  
132 dezembro e janeiro de 2009 com umidade relativa do ar média, abaixo dos 87 % (Figura  
133 1).

#### 134 Observações em campo

135 As observações em campo foram feitas mensalmente entre agosto e novembro  
136 de 2008 com duração de quatro a sete dias consecutivos. Observações esparsas foram  
137 realizadas entre os meses de novembro de 2008, fevereiro de 2009 e agosto de 2009. As

138 observações eram iniciadas aproximadamente 30 minutos após o pôr do sol e duravam  
139 por quatro ou cinco horas. Foram realizadas também observações ao longo do dia, em  
140 dias chuvosos ou imediatamente seguintes a chuvas fortes.

141 O dimorfismo sexual foi testado com relação ao comprimento rostro-cloacal e  
142 massa dos indivíduos capturados. As medidas foram realizadas com paquímetro digital  
143 com precisão de 0,01 mm. A massa dos indivíduos foi registrada em laboratório, em  
144 balança de precisão (0,0001g) com os animais mortos e conservados conforme Heyer et  
145 al (1994).

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

150 Casais em amplexo foram capturados e tiveram seu comprimento rostro-cloacal  
151 (CRC) medidos para identificar uma razão de tamanho entre os indivíduos.

152 O sucesso reprodutivo, foi medido, pelo sucesso de fecundação e sucesso de  
153 desenvolvimento nas desovas, para isso foram coletadas 31 desovas em campo e  
154 levadas para laboratório. O sucesso de fecundação foi determinado pela razão entre o  
155 número total de ovos fecundados dividido pelo número de óvulos liberados, e o sucesso  
156 de desenvolvimento das desovas dada pela razão entre os girinos e/ou embriões íntegros  
157 e o número total de ovos originários da desova (ovos destruídos ou íntegros, embriões  
158 íntegros, girinos íntegros ou mortos). Os ovos (N = 136) tiveram seu diâmetro medido a  
159 partir de fotografias com auxílio do programa Image J 1.42 (Abramoff et al., 2004).

160 Oito fêmeas foram capturadas após a desova para verificar se há correlação entre o CRC  
161 e a quantidade de óvulos liberados.

## 162 Observações comportamentais em laboratório

163 Ao total, foram capturadas quatro fêmeas com óvulos no abdome e 18 machos  
164 em atividade de vocalização. Estes indivíduos foram mantidos em um mesmo terrário  
165 para a observação do comportamento de corte.

166 Em laboratório foram oferecidos, de dois a oito machos a fêmeas com óvulos no  
167 abdome para testar verificar uma tendência da escolha da fêmea com relação ao  
168 tamanho (CRC) e massa dos machos. Os indivíduos levados ao laboratório foram  
169 coletados no campo, sendo escolhidos machos que estavam em atividade de vocalização  
170 e as fêmeas grávidas (i.e., maduros sexualmente), tomando o cuidado para que fossem  
171 testados indivíduos de uma mesma área estudada, de forma que a fêmea escolhesse  
172 algum macho da sua área de ocorrência. O intervalo de tempo entre o momento da  
173 captura e a experimentação não ultrapassou três horas.

## 174 Análise estatística

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

## 179 Resultados

### 180 Dimorfismo sexual

181 Os machos da população estudada são menores (CRC = 18,36 mm  $\pm$  0,08 (16,38  
182 – 21,54; n = 97) que as fêmeas (CRC = 19,58 mm  $\pm$  0,27 (17,45 – 22,53; n = 20) (t =  
183 4,21;  $P < 0,05$ ; F = 1,381). Machos [0,60 g  $\pm$  0,1 (0,40 – 0,79; n = 18)] não diferiram  
184 quanto a massa das fêmeas depois da desova [0,67g  $\pm$  0,09 (0,48 – 0,79; n = 8)]. Em

185 laboratório, machos que amplectaram fêmeas foram maiores [CRC =  $18,64 \pm 0,21$  mm  
186 ( $17,94 - 19,65$ ; n = 8)] que os machos rejeitados por elas [(CRC =  $17,31 \pm 0,26$  mm  
187 ( $16,38 - 19,18$ ; n = 10) ( $t = 3,08$ ;  $P < 0,05$ ;  $F = 1,84$ )], porém não mais pesados [  
188 amplectado  $0,64 \pm 0,08$  g ( $17,94 - 19,65$ ; n = 8) rejeitados  $0,56 \pm 0,10$  ( $0,40 - 0,79$ ; n =  
189 10) ( $t = 1,76$ ;  $P > 0,05$ ;  $F = 1,43$ ). Em terrário, quando machos foram oferecidos a  
190 fêmeas com óvulos no abdôme, na maioria das vezes (75 %, N = 4), a fêmea foi  
191 amplectada pelo maior macho do terrário.

192 O amplexo observado foi axilar (Figura 2c) e a razão de tamanho entre macho e  
193 fêmea em amplexo foi  $0,96 \pm 0,06$  ( $0,88 - 1,06$ ; n = 9), ou seja, o macho foi em média 4  
194 % menor que a fêmea.

#### 195 Atividade de vocalização

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

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

205 Machos foram observados em atividade de vocalização no período noturno com  
206 maior frequência. O turno de vocalização se estendeu por toda a noite. Nos dias  
207 seguintes a noites de chuva intensa os machos vocalizaram em locais abrigados (sob a  
208 vegetação) durante todo o dia, exceto nas horas mais quentes, entre 12h30 e 14h.

## 209 Corte

210 Em laboratório, foi observado o comportamento de corte de um casal. A fêmea  
211 caminhou na direção do macho (Figura 3a) e tocou-o nas costas com sua mão por  
212 aproximadamente 10 segundos (Figura 3b). Com três pequenos saltos virou de costas  
213 para ele (Figura 3c) e andou para tras (Figura 3d) até ficar com sua pata traseira direita  
214 sobre as pernas dele (Figura 3e). Aproximadamente dez segundos depois, a fêmea deu  
215 quatro leves golpes, similares a coices, no macho (dois golpes em duas vezes) com a  
216 perna direita. Com saltos curtos ela se deslocou para frente dele (Figura 3f) e o macho  
217 saltou e abraçou a fêmea no meio do corpo (Figura 3g). Depois de alguns segundos  
218 parados, ele vagorosamente move-se para frente até firmar-se em amplexo axilar (Figura  
219 2c). Em nenhum momento, durante a corte ou depois do amplexo o macho vocalizou.  
220 Porém, em outro casal formado em laboratório, o macho, enquanto amplexado a fêmea  
221 vocalizou (ver Capítulo 1: canto de corte).

## 222 Desova

223 Foram analisadas oito poças temporárias de aproximadamente  $1,85 \text{ m}^2 \pm 1,64$   
224 (0,21 – 5,4) que apresentaram de uma a sete desovas. As desovas foram observadas em  
225 campo em todos os meses entre setembro de 2008 e fevereiro de 2009 (Figura 1).

226 Desovas foram encontradas entre os meses de setembro de 2008 a março de  
227 2009 (Figura 1). Casais em amplexo, formados em campo (N = 2) ou em laboratório (N  
228 = 3) se deslocam pelo ambiente para a escolha do sítio de desova. O momento inicial da  
229 construção do ninho de espuma não foi observado em campo e desovas foram  
230 encontradas em locais onde os machos comumente vocalizam (Figura 2a, b, d). Foram  
231 encontradas 26 desovas na água e duas desovas de *Physalaemus spiniger* em buracos no  
232 solo (Figura 2e). Não havia poça principal na área onde essas últimas se encontravam. A  
233 poça mais próxima encontrava-se a mais de três metros de distância do buraco utilizado

234 para a desova e a presença da desova no buraco não foi decorrente da evaporação da  
235 poça. Com o avanço da estação chuvosa, toda a área ficou alagada, formando uma  
236 grande poça. Desovas em buracos no solo também foram encontradas adjacentes a  
237 poças temporárias (N = 4). Estes buracos aparentemente não foram construídos por  
238 indivíduos de *P. spiniger*, mas sim por queda de vegetação, drenagem de água pelo solo,  
239 ou mesmo movimentação de terra (arado ou passagem de automóvel). Nestes buracos  
240 sempre havia uma pequena quantidade de água no fundo, mesmo que não houvesse  
241 comunicação com a poça de água temporária adjacente.

242       Em laboratório pudemos observar (N = 2) que logo após o amplexo o macho  
243 pressionou a fêmea na região axilar com os braços repetidas vezes (três seqüências de  
244 dois ou três apertões). Após o amplexo, pode haver ou não o deslocamento do casal e  
245 não pudemos observar o intervalo de tempo que ocorre entre o amplexo e o início da  
246 desova. No processo da desova o macho bateu levemente com a região gular no dorso  
247 da cabeça da fêmea (duas seqüências de dois e três golpes) e arqueou o corpo de forma  
248 a posicionar suas pernas sobre o dorso da fêmea. Em seguida a fêmea inflou levemente  
249 o corpo e o macho posicionou os pés abaixo da cloaca dela. A fêmea contraiu  
250 novamente seu corpo mais fortemente e o macho levantou seus pés atrás de si ou na  
251 altura do seu dorso e bateu as pernas alternadamente num movimento de batedeira  
252 (Figura 2f) no sentido anti-horário. Essa sequencia de movimentos (macho arquear o  
253 corpo; posicionar os pés abaixo da cloaca da fêmea; levantar os pés e girar as pernas em  
254 movimento de batedeira) se repetiu até que a desova estivesse terminada o que pôde  
255 durar até duas horas (N= 3). O macho realizou em média cerca de seis voltas completas  
256 com cada uma das pernas [6,44 voltas  $\pm$  1,49 (2 – 11; n = 39)]. Aparentemente realizou  
257 um número maior de voltas e teve o movimento curto das pernas quando o ninho de  
258 espuma estava no começo da sua construção e um número menor de voltas e com

259 movimento amplo das pernas quando o ninho estava parcialmente construído. Após  
260 aproximadamente três segundos de rotação [ $3,45 \text{ s} \pm 0,95$  (2 – 6,87; n = 21)] o macho  
261 repousou suas pernas ou sobre o ninho de espuma ou dentro dele. Após  
262 aproximadamente 13 s o processo se reiniciava [ $13,01 \text{ s} \pm 3,06$  (9,32 – 20,56; n = 28)].

263 O movimento anterior ao movimento rotatório (no qual o macho posiciona as  
264 pernas no dorso da fêmea, os pés abaixo da cloaca da fêmea e as pernas sobre a desova,  
265 antes do movimento de rotação) durou aproximadamente 2 segundos [ $1,72 \text{ s} \pm 0,41$   
266 (0,66 – 2,54; n = 21)]. O processo todo, desde posicionar as pernas no dorso da fêmea e  
267 finalizar o movimento rotatório, durou cinco segundos aproximadamente [ $5,35 \text{ s} \pm 0,92$   
268 (2,91 – 8,59; n = 32)]. Após a construção do ninho, o macho soltou-se da fêmea e cada  
269 qual se deslocou para um lado. Em três ocasiões a fêmea permaneceu com a parte  
270 posterior do corpo imerso na desova.

271 O ninho de espuma tem a consistência de clara de ovo batida e não se  
272 desmancha imediatamente quando em formalina 5 %. Os ovos são liberados durante o  
273 processo de construção do ninho de espuma (Figura 2f). Os ninhos de espuma sempre  
274 que foram avistados sobre a superfície da água (Figura 2d) estavam ancorados na  
275 vegetação ou na terra. As desovas foram depositadas em buracos não construídos no  
276 solo argiloso (Figura 2e).

277 Foram medidos 136 ovos fecundados provenientes de oito desovas (12, 14, 15,  
278 16, 17, 17, 19 e 26 ovos por desova). O ovo fecundado apresentou diâmetro médio de  
279  $1,56 \pm 0,13 \text{ mm}$  (1,2 – 1,89) e o volume médio de  $2,03 \pm 0,48 \text{ mm}^3$  (0,9 – 3,55). A  
280 membrana vitelínica estava visível e teve espessura de  $0,35 \pm 0,19 \text{ mm}$  (0,06 - 1,08 mm;  
281 n = 37; 4 desovas), a cápsula gelatinosa que envolve o ovo é única e apresentou  
282 espessura média de  $0,35 \pm 0,19 \text{ mm}$  (0,06 – 1,08; n = 37; 4 desovas). São visíveis a olho

283 nu o pólo animal (escuro) e o pólo vegetativo (claro). O embrião entre os estágios 19 e  
284 20 (Gosner, 1960) já apresentava movimentos.

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

289 As oito fêmeas que desovaram em laboratório, seja por casais formados em  
290 campo (N = 4), seja por casais formados em laboratório (N = 4), tiveram seus ovários  
291 examinados. As oito fêmeas apresentaram ovócitos em diferentes estágios de  
292 desenvolvimento nos ovários.

### 293 Sucesso reprodutivo

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

301 Não houve correlação entre o sucesso de fecundação e a razão de tamanho entre  
302 machos e fêmeas ( $r_s = -0,04$ ;  $P > 0,05$ ; N = 7) e nem com o CRC do macho ( $r_s = 0,035$ ;  
303  $P > 0,05$ ; N = 7). Não foi encontrada correlação linear entre o CRC das fêmeas e a  
304 quantidade de ovos desovados ( $r_s = 0,16$   $P > 0,05$ ; N = 7); nem entre o CRC da fêmea e  
305 os óvulos maduros remanescentes no ovário ( $r_s = 0,22$ ;  $P > 0,05$ ; N = 4), nem entre o  
306 CRC da fêmea e a quantidade total de óvulos (óvulos depositados + óvulos maduros  
307 remanescentes no ovário) ( $r_s = 0,31$ ;  $P > 0,05$ ; N = 4).

308 Discussão

309 Dimorfismo sexual

310 O dimorfismo sexual encontrado para *P.spiniger* já foi registrado por diversos autores  
311 (e.g. Barreto & Andrade 1995; Barrio 1965; Bokermann 1966, 1967; Caramachi et al. 2003;  
312 Haddad & Sazima 2004; Heyer 1990, Hödl 1990; Prado & Haddad 2005; Weber et al. 2005;  
313 Wogel et al. 2002) e a mesma razão de tamanho entre machos e fêmeas, não  
314 necessariamente em amplexo, foi encontrada para outras espécies do grupo *P. signifer*  
315 (*P. atlanticus* – Haddad & Sazima, 2004; *P. angrensis* – Weber et al., 2005; *P. signifer*  
316 – Wogel et al., 2002) e outras espécies do gênero [*P. albifrons* - Bokermann 1966; *P.*  
317 *cicada* - Bokermann 1966; *P. cuvieri* – Barreto & Andrade 1995; *P. erythros*  
318 Caramaschi, Feio & Guimarães-Neto, 2003; *P. fernandezae* (Müller, 1926) – Barrio,  
319 1965; *P. henselii* (Peters, 1872) – Barrio, 1965; *P. jordanensis* Bokermann, 1967–  
320 Bokermann, 1967; *P. kroyeri* (Reinhardt and Lütken, 1862) – Bokermann, 1966; *P.*  
321 *marmoratus* Nascimento et al., 2006].

322 Alguns autores (Bourne, 1993; Bastos & Haddad, 1996) sugerem, para hilídeos,  
323 que espécies que realizam amplexos axilares e que apresentam machos que variem de  
324 60 a 80 % do tamanho da fêmea possuem mais sucesso na fertilização dos ovos, devido  
325 a justaposição das cloacas no momento da fecundação. Porém, alguns comportamentos  
326 posturais (como arquear o corpo durante o amplexo) podem promover a justaposição  
327 das cloacas, resultando em altas taxas de fecundação dos ovos (Wogel et al., 2005). A  
328 curvatura postural observada em *P. spiniger* possivelmente se deve a necessidade de o  
329 macho recolher o óvulo liberado pela fêmea e misturá-lo à espuma e não a necessidade  
330 de justaposição das cloacas, que já ocorre dada a razão de tamanho entre machos e  
331 fêmeas em amplexo. Em caso de espécies que desovam em ninhos de espuma, a  
332 necessidade de justaposição das cloacas para a alta taxa de fecundação dos ovos pode

333 não ser tão intensa, uma vez que a manipulação dos ovos para misturá-los a espuma  
334 pode facilitar a fecundação (C. Prado, comunicação pessoal). No caso de *P. spiniger* as  
335 fêmeas foram amplectadas pelos maiores machos disponíveis, com tendência a uma  
336 razão de tamanho maior, o que pode ter favorecido o alto sucesso de fecundação, uma  
337 vez que a escolha exercida pela fêmea, em relação ao CRC do macho, se dá em função  
338 de uma melhor justaposição das cloacas durante a desova, e isso possibilita uma maior  
339 taxa de fecundação (Bastos & Haddad, 1996, 1999, Bourne, 1993).

#### 340 Atividade de vocalização

341 A postura do corpo adotada por *P. spiniger* durante a atividade de vocalização  
342 (parte anterior do corpo fora d'água apoiado sobre as patas traseiras) já havia sido  
343 registrada para *P. centralis* Bokermann, 1962 (Brasileiro, 1998; Brasileiro & Martins,  
344 2006), *P. cicada* Bokermann, 1966 (Bokermann, 1966), *P. cuvieri* (Barreto & Andrade,  
345 1995) e *P. signifer* (Girard, 1853) (Wogel et al., 2002). A vocalização em locais de  
346 pouca profundidade (até 10 cm) já havia sido descrita para *P. albifrons* (Spix, 1824)  
347 (Bokermann, 1966), *P. cicada* (Bokermann, 1966), *P. kroyeri* (Reinhardt & Lütken,  
348 1862) (Bokermann, 1966), *P. obtectus* Bokermann, 1966 (Bokermann, 1966) e *P.*  
349 *signifer* (Wogel et al., 2002). *Physalaemus centralis* Bokermann, 1962 (Brasileiro &  
350 Martins, 2006) e *P. rupestris* Caramaschi, Carcerelli & Feio, 1991 (Caramaschi et al.,  
351 1991) já haviam sido registradas vocalizando sobre o solo. Espécies pertencentes a  
352 outros gêneros foram registrados vocalizando sobre o solo e em alguns casos este  
353 comportamento foi relacionado a desovas postas fora da água (Costa et al., 2006, Santos  
354 & Amorim, 2005). Sendo assim, este comportamento de vocalização fora da água  
355 (sobre o solo ou abrigado sob a serapilheira), registrado pela primeira vez para *P.*  
356 *spiniger*, pode estar relacionado à grande plasticidade em modos reprodutivos

357 apresentada pela espécie. Isto é, alguns machos podem estar vocalizando próximos às  
358 buracos no solo nos quais podem desovar (presente estudo).

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

368 *Physalaemus spiniger* possui reprodução prolongada, caracterizada pela  
369 ausência de comportamentos específicos de espécies de reprodução explosiva (e.g.,  
370 busca ativa por fêmeas e macho deslocador) e pela atividade de vocalização e de desova  
371 que se estende por mais de seis meses (*sensu* Wells, 1977). Além disso, a atividade de  
372 vocalização, mesmo durante o dia, pode classificá-la como uma espécie oportunista  
373 (Crump, 1974), permanecendo em atividade reprodutiva dependendo das condições  
374 ambientais. Neste caso, as condições ambientais que permitem *P. spiniger* vocalizar  
375 durante o dia são: as temperaturas amenas (a média mensal não ultrapassa 24° C),  
376 umidade relativa do ar e pluviosidade altas. *Physalaemus spiniger* pode ser considerada  
377 também como uma espécie pioneira, colonizando a poça no início da estação chuvosa  
378 (Weber & Silva, 2001) da mesma forma que *P. signifer* (Wogel et al., 2002). Em *P.*  
379 *signifer* poucos dias de chuva escassa promoveram o acúmulo de água, fato suficiente  
380 para desencadear a atividade reprodutiva da espécie (Wogel et al., 2002). Isto demonstra  
381 que o fator ambiental principal responsável pela atividade reprodutiva da espécie é a

382 chuva ou a presença de poças (Wogel et al., 2002) e pode indicar que o mesmo fator  
383 ambiental (a chuva ou a presença de poças) seja o responsável pela atividade em *P.*  
384 *spiniger*, como observado neste estudo, e sugerir que o mesmo ocorra nas demais  
385 espécies do grupo.

386 O amplexo de *P. spiniger* é axilar assim como o observado por outros autores  
387 para espécies cogenéricas (Brasileiro & Martins, 2006; Bokermann, 1962). A  
388 observação de casais em amplexo se deslocando também foi observada para *P. cuvieri*  
389 (Bokermann, 1962; Cardoso, 1981) e *P. ephippifer* (Steindachner, 1864) (Hödl, 1990).  
390 Nestes casos os autores afirmam que o local da deposição dos ovos pode ser coincidente  
391 ou não com o sítio de vocalização dos machos (Bokermann, 1962; Cardoso, 1981; Hödl,  
392 1990).

### 393 Corte

394 O contato físico antes do amplexo entre machos e fêmeas durante a corte, foi  
395 descrito para algumas espécies seja da família Leiuperidae (Ryan, 1985) e outras  
396 famílias (Haddad & Sawaya, 2000; Giaretta & Kokubum, 2004; Kokubum & Souza,  
397 2008; Lucas et al., 2008) e foi observada com maior frequência em espécies de  
398 reprodução prolongada (Ryan, 1985; Giaretta & Kokubum, 2004). A sinalização tátil é  
399 comumente observada em espécies em que há a condução da fêmea pelo macho até o  
400 local de desova [*Hylodes heyeri* Haddad, Pombal & Bastos, 1996 – obs. pessoal;  
401 *Aplastodiscus leucopygius* (Cruz & Peixoto, 1985) – Haddad & Sawaya, 2000;  
402 *Leptodactylus furnarius* Sazima & Bokermann, 1978 (Giaretta & Kokubum, 2004);  
403 *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) – Giaretta & Kokubum 2004; Lucas et al., 2008;  
404 *Leptodactylus* sp. (aff. *hylaedactylus*) – Kokubum & Souza, 2008] e em situações em  
405 que o macho constrói um local de desova antes da chegada da fêmea (Haddad &  
406 Sawaya, 2000; Giaretta & Kokubum, 2004). Tal comportamento de condução de fêmea

407 e/ou construção do local de desova não parece ser o caso de *P. spiniger* que aparenta  
408 usar buracos previamente formados no ambiente ou ocultar suas desovas sob a  
409 vegetação de gramíneas as margens das poças. No caso de *P. spiniger* a comunicação  
410 tátil parece fazer parte da sinalização de interesse ou aceitação da fêmea ao macho. Da  
411 mesma forma que em *Engystomops pustulosus* (Cope, 1864), em que há o contato  
412 físico da fêmea no macho cantor antes de ser amplexada por ele (Ryan, 1985).

413 Desova

414 O movimento do macho de bater a perna alternadamente é conhecido para  
415 diversas espécies [*E. pustulosus* (Ryan, 1985); *L. fuscus* (Oliveira-Filho et al. 2005); *P.*  
416 *ephippifer* (Hold, 1990)] e em *P. spiniger*, como na maioria das espécies do gênero, a  
417 deposição dos ovos ocorre durante a formação do ninho. A média do número de ovos  
418 produzidos por *P. spiniger* é menor (70 ovos- presente estudo) do que as demais  
419 espécies do gênero como *P. maculiventris* Lutz, 1925 (129 ovos) (Heyer et al. 1990), *P.*  
420 *signifer* (273 ovos) (Wogel et al., 2002), *P. cuvieri* (474 ovos) (Barreto & Andrade,  
421 1995), *P. ephippifer* (415 ovos) (Hödl, 1990), *P. lisei* (539 ovos) (M. Solé – dados não  
422 publicados), *P. centralis* (1872 ovos) (Brasileiro & Martins, 2006) e *P. marmoratus*  
423 (2465 ovos) (Giaretta & Menin, 2004). Porém, não difere do número médio de ovos  
424 encontrado em *P. atlanticus* (81 ovos), espécie morfologicamente críptica (Haddad &  
425 Sazima, 2004). O tamanho dos ovos registrados nesse estudo não difere do encontrado  
426 por Haddad e Pombal (1998).

427 É comum ser observada uma correlação positiva entre o tamanho da fêmea e a  
428 quantidade de ovos produzida em diversas espécies, sejam da família Leiuperidae (e.g.,  
429 *P. centralis* - Brasileiro & Martins 2006; *P. signifer* - Wogel et al., 2002) ou não [e.g.,  
430 *Mannophryne trinitatis* (Garman, 1888) - Pradeiro & Robinson, 1990; *Elachistocleis*  
431 *bicolor* (Guérin-Méneville, 1838) - Rodrigues et al., 2003; *Leptodactylus chaquensis*

432 Cei, 1950 - Prado et al., 2000; *L. fuscus* (Schneider, 1799) - Martins, 1988; *Rana*  
433 *temporaria* Linnaeus, 1758 - Ryser, 1989]. Com base nesta informação era esperado  
434 que as fêmeas de *P. spiniger* e *P. atlanticus* que são menores que as demais fêmeas [*P.*  
435 *maculiventris* (23,3mm) (Heyer et al. 1990), *P. centralis* (34,7 mm) (Brasileiro &  
436 Martins, 2006), *P. signifer* (27,4 mm) (Wogel et al., 2002), *P. cuvieri* (31,2 mm)  
437 (Barreto & Andrade, 1995), *P. ephippifer* (31,0 mm) (Hödl, 1990), *P. marmoratus* (39,3  
438 mm) (Giaretta & Menin, 2004)] apresentassem menor número de ovos.

439         A ovogênese assincrônica foi registrada para *E. pustulosus* como um padrão de  
440 desenvolvimento de ovócito capaz de maximizar a reprodução (Ryan, 1985) e é um  
441 padrão de ovogênese favorável a reprodução em ambientes imprevisíveis. A ovogênese  
442 assincrônica é um processo capaz de resolver o problema da falta de espaço na cavidade  
443 abdominal de fêmeas para produzir uma quantidade numerosa de óvulos (Davidson &  
444 Hough, 1969). A ovogênese em anuros apresenta seis estágios, sendo o estágio seis  
445 aquele em que ocorre o acúmulo de vitelo, e precede a liberação do ovócito para  
446 fecundação (Davidson & Hough, 1969). A fêmea mantém lotes de ovócitos no estágio  
447 cinco e logo depois que libera um lote de óvulos em estágio seis, um segundo lote em  
448 estágio cinco é maturado (Davidson & Hough, 1969). Desta forma, é possível otimizar o  
449 espaço e ter grande número de ovócitos numa mesma estação reprodutiva. É sugerida  
450 uma vantagem para espécies que usam ambientes temporários para a reprodução, pois  
451 nestas situações é vantagem o maior número de ovócitos disponíveis para desova  
452 quando os sítios de reprodução estejam viáveis (Davidson & Hough, 1969) e pela  
453 imprevisibilidade dos ambientes temporários, proles menores podem aumentar a chance  
454 de reprodução efetiva (reprodução dos adultos e desenvolvimento das larvas até a  
455 metamorfose). A presença de ovócitos em diferentes estágios de maturação no ovário

456 das fêmeas após a desova é um indicativo de que *P. spiniger*, da mesma forma que *E.*  
457 *pustulosus*, possui ovogênese assincrônica (Ryan, 1985).

458 A baixa correlação entre o CRC das fêmeas e o número de ovos da desova,  
459 juntamente com o pequeno número de ovos por desova, a reprodução durante todo o  
460 ano e a presença de fêmeas com óvulos nos ovários durante todo o ano foram apontados  
461 como fatores indicativos de ocorrência de desova múltipla em *Pseudis limellum* (Cope,  
462 1862) (Prado & Uetanabaro, 2000). Em *P. spiniger* não houve correlação entre o CRC  
463 das fêmeas e o número de ovos nas respectivas desovas, mas, a presença de desovas  
464 durante quase toda a estação reprodutiva e a identificação de ovogênese assincrônica  
465 são indícios de que esta espécie seja parte do grupo de espécies capazes de realizar mais  
466 de uma desova por estação reprodutiva (desovas múltiplas).

467 Atualmente são conhecidos três modos reprodutivos para *P. spiniger* (modo 11 –  
468 ninhos de espuma na água; modo 14 – ninhos de espuma em axilas de bromélias e modo  
469 28 – ninho de espumas no solo úmido)(Haddad & Pombal, 1998). Além destes,  
470 observamos uma variação no modo reprodutivo 14 (*sensu* Haddad & Prado, 2005). Na  
471 classificação original, o modo 14 consiste em ninhos de espuma depositados em axilas  
472 de bromélias, e os girinos exotróficos completam seu desenvolvimento na poça depois  
473 da inundação (Haddad & Prado, 2005). Fazemos aqui uma breve adaptação a este modo,  
474 no sentido que o local para a construção do ninho de espuma pode ser qualquer orifício  
475 ou local abrigado próximo, ou no solo, seja axila de bromélia ou depressões no solo. O  
476 uso de buraco no solo para a desova é pela primeira vez registrado para o gênero  
477 *Physalaemus*.

478 A elevada mortalidade causada pelas larvas de díptera nas desovas pode ser uma  
479 pressão que leva à deposição das desovas em buracos, seja no solo, em árvores ou em  
480 bromélias, ficando mais protegidos. Da mesma forma, a estratégia elaborada no modo

481 reprodutivo, de desova em tocas subterrâneas, foi atribuída em *A. leucopygius* a uma  
482 pressão seletiva dos predadores (Haddad & Sawaya, 2000). A pressão de predação é  
483 uma explicação plausível para evolução de alguns modos reprodutivos na Mata  
484 Atlântica (Haddad & Prado, 2005).

485 É provável que a deposição dos ninhos de espuma na água (modo 11) seja o  
486 modo primitivo desta espécie, visto que ocorre nas demais espécies do gênero e é a mais  
487 comumente observada para esta espécie. A deposição de ninhos de espuma nas axilas de  
488 bromélias terrestres ou em buracos no solo (modo 14) seria um passo intermediário  
489 entre ao outro modo observado para a espécie: deposição de ninhos de espuma no solo  
490 (modo 28) (Figura 8).

#### 491 Sucesso reprodutivo

492 Sucesso de fecundação semelhante ao de *P. spiniger* foi encontrado para outras  
493 espécies da Mata Atlântica: *P. cuvieri* com mais de 90% de sucesso de fecundação  
494 (Bokermann, 1962), 95 % para *Dendropsophus bipunctatus* (Spix, 1824) (Wogel &  
495 Pombal, 2007), 99,7 % para *Phyllomedusa rohdei* Mertens, 1926 (Wogel et al., 2005) e  
496 86,22 % para *Scinax fuscomarginatus* (Lutz, 1925) (Toledo & Haddad, 2005). Valores  
497 baixos no sucesso de fecundação devem indicar estratégias reprodutivas alternativas,  
498 como deposição de óvulos tróficos (e.g., 6.5 % de sucesso observado em *Leptodactylus*  
499 *labyrinthicus* (Spix, 1824) Prado et al., 2005).

#### 500 Conclusões

501 *Physalaemus spiniger* é uma espécie altamente complexa em diversas  
502 características. A variação do modo reprodutivo de número 14, com a desova depositada  
503 em depressões no solo confere a *Physalaemus spiniger* uma proteção especial contra  
504 predadores e uma plasticidade às diferenças de habitat onde a espécie ocorre. A

505 complexidade de *P. spiniger* não se dá somente nos modos reprodutivos diferenciados,  
506 mas também quanto ao comportamento de corte que envolve além da comunicação  
507 sonora a comunicação tátil. Certamente é a espécie da família Leiuperidae com maior  
508 complexidade e reprodutiva conhecida. E todas estas características juntamente com a  
509 alta taxa de fecundação dos ovos e a capacidade de realizar desovas múltiplas fornece à  
510 espécie uma grande adaptação ao ambiente e um grande sucesso reprodutivo e pode  
511 facilitar a adaptação da espécie a mudanças ambientais tornando a espécie mais  
512 resistente que outras filogeneticamente próximas e até mesmo dentre as espécies do  
513 microhábitat que ocupa.

514

515       Agradecimentos

516       Agradecemos a Cynthia P. A. Prado e Célio F. B. Haddad pelas valiosas  
517 contribuições no manuscrito. A Capes e a Fapesp (proc. no. 2008/50325-5 e  
518 2008/52847-9) pelo auxílio e pelas bolsas de estudos. A FBPN pelo apoio logístico.  
519 Licença de coleta ICMBio (licença nº 16461-1, código de autenticação 24171151).

520       Referências

521       Ab'Saber, A. N. 1977. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. Primeira  
522       aproximação. Geomorfologia 52:1-23.

523       Abramoff, M. D., Magelhaes, P. J., and S. J. Ram 2004. "Image rocessing with imageJ".  
524       Biophotonics International 11(7):36-42.

525       Altmann, J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods.  
526       Behaviour15:227-267.

- 527 Barreto L., and G. V. Andrade 1995. Aspects of the reproductive biology of  
528 *Physalaemus cuvieri* (Anura: Leptodactylidae) in northeastern Brazil. *Amphibia-*  
529 *Reptilia* 16:67-76.
- 530 Barrio, A. 1965. El género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina.  
531 *Physis* 25:421-448.
- 532 Bastos R. P., and C. F. B. Haddad 1996. Breeding activity of the Neotropical treefrog  
533 *Hyla elegans* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* 30:355–360.
- 534 Bastos, R. P., and C. F. B. Haddad 1999. Atividade reprodutiva de *Scinax rizibilis*  
535 (Bokermann) (Anura, Hylidae) na Floresta Atlântica, sudeste do Brasil. *Revista*  
536 *Brasileira de Zoologia* 16(2):409-421.
- 537 Bokermann W. C. A. 1967. Três novas espécie de "*Physalaemus*" do sudeste Brasileiro.  
538 *Revista Brasileira de Biologia* 27(2):135-143.
- 539 Bokermann, W. C. 1962. Observações Biológicas sobre "*Physalaemus cuvieri*"  
540 Fitz, 1826 (Amphibia, Salientia). *Revista Brasileira de Biologia* 22(4):391-339.
- 541 Bokermann, W. C. A. 1966. "Notas Sobre três espécies de "*Physalaemus*" de Maracás,  
542 Bahia (Amphibia, Leptodactylidae)." *Revista Brasileira de Biologia* 26(3):253-  
543 259.
- 544 Bourne, G. R. 1993. Proximate costs and benefits of mate acquisition at leks of the frog  
545 *Oloolygon rubra*. *Animal Behaviour* 45:1051–1059.
- 546 Brasileiro, C. A. 1998. *Physalaemus centralis* (NCN). Male-male combat.  
547 *Herpetological Review* 29(3):165.
- 548 Brasileiro, C. A., and M. Martins 2006. Breeding biology of *Physalaemus centralis*  
549 Bokermann, 1962 (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil. *Journal of*  
550 *Natural History* 40(17–18):1199–1209.

- 551 Caramaschi U., Carcerelli L. C., and R. Feio 1991 A new species of *Physalaemus*  
552 (Anura: Leptodactylidae) from Minas Gerais, Southeastern Brazil. *Herpetologica*  
553 47(2):148-151.
- 554 Caramaschi, U., Feio, R.N., Guimarães-Neto A.S. 2003 A New, Brightly colored  
555 species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae) from Minas Gerais,  
556 Southeastern Brazil. *Herpetologica* 59(4):519-524. Available at:  
557 <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1655/02-102>.
- 558 Cardoso, A. J. 1981. Biologia e sobrevivência de *Physalaemus cuvieri* (Fitz.) 1826  
559 (Amphibia, Anura) na natureza. *Ciência e Cultura*. 33:1224-1228.
- 560 Costa, R. C. Facure, K. G., and A. A. Giaretta 2006. Vocalização e descrição do girino  
561 de *Epipedobates flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) no sul de Goiás. *Biota*  
562 *Neotropica* 6(1)  
563 <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?article+bn00506012006> .  
564 ISSN 1676-061 .
- 565 Costa, T. R. N., Silva, N. R. and L. F. Toledo 2009. *Physalaemus spiniger* (Iguape  
566 Dwarf Frog) eggs and adult predation. *Herpetological Review*, aceito. (ver anexo  
567 da dissertação).
- 568 Crump, M. L. 1974. Reproductive strategies in a tropical anuran community.  
569 *Miscellaneous Publication of the Museum of Natural History* 61:1-68.
- 570 Cruz, A. G. C., Nascimento, L. B., and R. N. Feio 2007. A new specie of the genus  
571 *Physalaemus* Fitzinger 1826 (Anura: Leuiperidae) from southeastern Brasil.  
572 *Amphibia-Reptilia* 28:457-465.
- 573 Davidson, E. H., and B. R. Hough 1969. Synchronous oogenesis in *Engystomops*  
574 *pustulosus*, a Neotropic anuran suitable for laboratory studies: Localization in

- 575 the embryo of RNA synthesized at the lampbrush stage. *Journal of Experimental*  
576 *Zoology* 172: 25-48.
- 577 FBPN 2001. Fundação O Boticário de Proteção da Natureza. Reserva Natural Salto  
578 Morato - Plano de Manejo. Versão preliminar. São José dos Pinhais.
- 579 Giaretta, A. A. and M. N. C. Kokubum 2004. Reproductive ecology of *Leptodactylus*  
580 *furnarius* Sazima & Bokermann, 1978, a frog that lay eggs in underground  
581 chambers (Anura, Leptodactylidae). *Herpetozoa* 16:115-126.
- 582 Giaretta, A. A., and M. Menin 2004. Reproduction, phenology and mortality sources of  
583 a species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Natural History*  
584 38:1711–1722.
- 585 Grant, T., Frost, D. R., Caldwell, J. P., Gagliardo, R., Haddad, C. F. B., Kok, P. J. R.,  
586 Means, B. D., Noonan, B. P., Schargel, W., and W. C. Wheeler 2006.  
587 Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Anura:  
588 Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural*  
589 *History* 299:184-203.
- 590 Haddad, C. F. B., & R. J. Sawaya 2000. Reproductive modes of Atlantic Forest hylid  
591 frogs: A general overview and the description of a new mode. *Biotropica*  
592 32(4b):862–871.
- 593 Haddad, C. F. B., and C. P. A. Prado 2005. Reproductive modes in frogs and their  
594 unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *BioScience* 55(3):207-217.
- 595 Haddad, C. F. B., and I. Sazima 2004. A new species of *Physalaemus* (Amphibia;  
596 Leptodactylidae) from the Atlantic forest in southeastern Brazil. *Zootaxa* 479:1–  
597 12.

- 598 Haddad, C. F. B., and J. P. Pombal Jr 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger*  
599 (Anura: Leptodactylidae) and description of two new reproductive modes.  
600 Journal of Herpetology 32(4):557-565.
- 601 Hammer, Ø. Harper, D. A. T. and P. D. Ryan 2001. PAST v., 1.9: Paleontological  
602 statistics software package for education and analysis. Paleontologia Electronica  
603 4(1):9.
- 604 Heyer, W. R.; Rand, A. S., Cruz C. A. G. Peixoto O. L., and C. E. Nelson 1990. Frogs  
605 of Boraceia. Arquivos de Zoologia 31:231-410.
- 606 Heyer, W. R.; Donnelly, M. A. Mc Diarmid R.W. Hayek L. A. C. and Foster M. S.  
607 1994. Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for  
608 Amphibians. Smithsonian Institutional Press.
- 609 Hödl W. 1990 An analysis of foam nest construction in the Neotropical frog  
610 *Physalaemus ephippifer* (Leptodactylidae). Copeia 1990:547–554.
- 611 Kokubum, M. N. C. and M. B. Souza 2008. Reproductive ecology of *Leptodactylus* aff  
612 *hylaedactylus* (Anura, Leptodactylidae) from an open area in Northern Brazil.  
613 South American Journal of Herpetology 3:15–21.
- 614 Köppen, W. 1900. Versuch einer Klassifikation der Klimate vorsugsweise nach ihren  
615 Beziehungen zur Pflanzenwelt. Geograph. Zeirsehr 6: 593- 611, 657-679.
- 616 Lehner, P. N. 1979. Handbook of ethological methods. Garland STPM Press, New  
617 York. 403p.
- 618 Lucas, E. M., Brasileiro, C. A., Oyamaguchia, H. M., & M. Martins 2008. The  
619 reproductive ecology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae): new  
620 data from natural temporary ponds in the Brazilian Cerrado and a review  
621 throughout its distribution. Journal of Natural History 42(35–36):2305–2320.

- 622 Magnusson, W. E. & J. M. Hero 1991 . Predation and the evolution of complex  
623 oviposition behavior in Amazon rainforest frogs. *Oecologia* 86:310-318.
- 624 Martin, P., and P. Bateson 1986. *Measuring behavior: an introductory guide*. Cambridge  
625 Univ. Press. 199p.
- 626 Martins, M. 1998. Biologia reprodutiva de *Leptodactylus fuscus* em Boa Vista, Roraima  
627 (Amphibia: Anura). *Revista Brasileira de Biologia* 48(4):969-977.
- 628 Nascimento L. B., Pimenta B. V., Cruz C. A., and U. Caramaschi 2006 Taxonomic  
629 status of *Gomphobates marmoratus* Reinhardt and Lutken 1862 "1861" and  
630 *Eupemphix fuscomaculatus* Steidachner 1864 (Amphibia, Anura,  
631 Leptodactylidae). *South American Journal of Herpetology* 1(3):166-174.
- 632 Nascimento, L. B., Caramaschi, U., and C. A. G. Cruz 2005. Taxonomic review of the  
633 species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with the revalidation  
634 of the genera *Engystomops* Jiménez-De La-Espada, 1872 and *Eupemphix*  
635 Steindachner, 1863 (Amphibia Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu*  
636 *Nacional* 63(2): 297-320.
- 637 Nascimento, L. B., Carvalho, R. R.; Wogel, H.; Fernandes, D. S., and R. N. Feio 2001.  
638 Reprodução e descrição do girino de *Physalaemus rupestris* Caramaschi,  
639 Carcerelli and Feio, 1991 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Boletim do*  
640 *Museu Nacional* 450:1-10.
- 641 Oliveira Filho J. C.; Costa, H. C. de M. and U. M. L. Braga 2005. Egg-laying and foam-  
642 beating in *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae). *Biota Neotropica*  
643 5(2):319-320.
- 644 Pimenta, B. V. S., Cruz, C. A. G., and D. L. Silvano 2005. A new species of the genus  
645 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain  
646 Forest of southern Bahia, Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26 :201-210.

- 647 Pradeiro, M. J., and M. D. Robinson 1990. Reproduction in the toad *Colostethus*  
648 *trinitatus* (Anura: Dendrobatidae) in a northern Venezuela seasonal  
649 environment. *Journal of Tropical Ecology* 6:333-341.
- 650 Prado C. P., Uetanabaro, M., and F. S. Lopes 2000. Reproductive strategies of  
651 *Leptodactylus chaquensis* and *L. podipicinus* in the Pantanal Brazil. *Journal of*  
652 *Herpetology* 34(1):135-139.
- 653 Prado, C. P. A., and M. Uetanabaro 2000. Reproductive biology of *Lysapsus limellus*  
654 Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) in the Pantanal, Brazil. *Zoocriadeiros* 3(1):25-  
655 30.
- 656 Prado, C. P., Toledo, L. F., Zina J., and C. F. B. Haddad 2005. Trophic eggs in the foam  
657 nests of *Leptodactylus labyrinthicus* (anura, leptodactylidae): an experimental  
658 approach. *Herpetological Journal* 15:279-284.
- 659 Rodrigues, D. J., Lopes, F. S., and M. Uetanabaro 2003. Padrão reprodutivo de  
660 *Elachistocleis bicolor* (Anura, Microhylidae) na Serra da Bodoquena, Mato  
661 Grosso do Sul, Brasil. *Iheringia* 93(4):365-371.
- 662 Ryan, M.J. 1985. The Túngara frog: A Study in a Sexual Selection and Communication.  
663 The University of Chicago Press, Chicago 51p.
- 664 Ryser, J. 1989. Weight loss, reproductive output, and the cost of reproduction in the  
665 common frog, *Rana temporaria*. *Oecologia* 78: 264–268.
- 666 Santos E. M., and F. O. Amorim 2005. Modo reprodutivo de *Leptodactylus natalensis*  
667 Lutz, 1930 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de*  
668 *Zoociências* 7(15): 39-4.
- 669 Toledo, L. F., and C. F. B. Haddad 2005 Reproductive biology of *Scinax*  
670 *fuscmarginatus* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. *Journal of*  
671 *Herpetology* 39:3029-3037.

- 672 Weber, L. N., and S. P. Carvalho e Silva 2001. Descrição da larva de *Physalaemus*  
673 *signifer* (Girard, 1853) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) e informações sobre  
674 a reprodução e a distribuição geográfica da espécie. Boletim do Museu Nacional  
675 462:1-6.
- 676 Weber, L. N., Gonzaga, L. P., and S. P. Carvalho e Silva 2005. A New species of  
677 *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland Atlantic forest of Rio de Janeiro  
678 state, Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylide). Arquivos do Museu Nacional  
679 63(4):677-684.
- 680 Wells, K. D. 1976. Multiple Egg Clutches in the green frog (*Rana clamitans*).  
681 Herpetologica 32(1) 85-87.
- 682 Wells, K. D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. Animal Behaviour  
683 25:666-693.
- 684 Wogel, H., Abrunhosa, P. A., and J. P. Pombal Jr. 2002. Atividade reprodutiva de  
685 *Physalaemus signifer* (Anura, Leptodactylidae) em ambiente temporário.  
686 Iheringia 92(2):57-70.
- 687 Wogel, H., Abrunhosa, P., and J. P. Pombal Jr. 2005. Breeding behaviour and mating  
688 success of *Phyllomedusa rohdei* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil.  
689 Journal of Natural History 39(22):2035-2045.
- 690 Wogel, H., and J. P. Pombal Jr. 2007. Comportamento reprodutivo e seleção sexual em  
691 *Dendropsophus bipunctatus* (Spix, 1824)(Anura, Hylidae). Papéis Avulsos de  
692 Zoologia 47(13):165-174.

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

Espécie	Grupo	macho (mm)	fêmea (mm)	número de ovos	razão	
					macho/fêmea	Fonte
<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	--	0,9	Haddad & Pombal 1998
<i>P. spiniger</i>	<i>P. signifer</i>	18,3	19,58	70	0,9	Presente estudo

695

### 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 – Indivíduos de *Physalaemus spiniger* no município de Guaraqueçaba, Paraná. A) macho vocalizando com parte do corpo fora da água quando exposto; B) macho vocalizando abrigado sob folhas; C) casal em amplexo axilar; D) desovas na água; E) desova em depressão no solo, as setas destacam dois casais realizando as posturas; F) casal em amplexo realizando a postura dos ovos. A seta indica um óvulo liberado, indicando que sua liberação ocorre ao longo da construção do ninho.

Figura 3 – Esquema representando a corte em *Physalaemus spiniger* no município de Guaraqueçaba, Paraná em agosto de 2009. 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 4 – 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 modo 28 mais derivado e os modos 14 um intermediário entre o modo primitivo e o mais derivado.

Figura 1

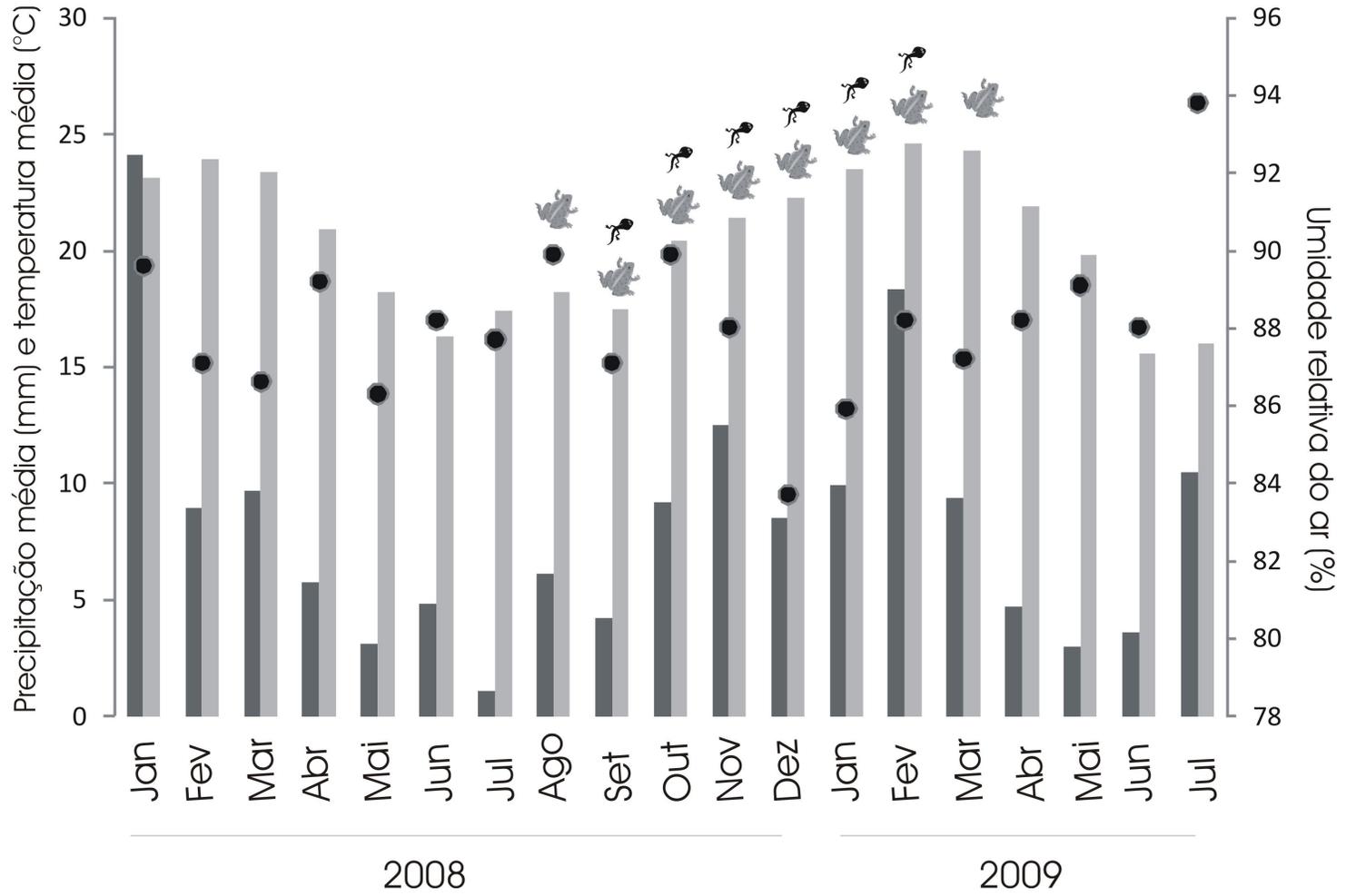


Figura 2.



Figura 3

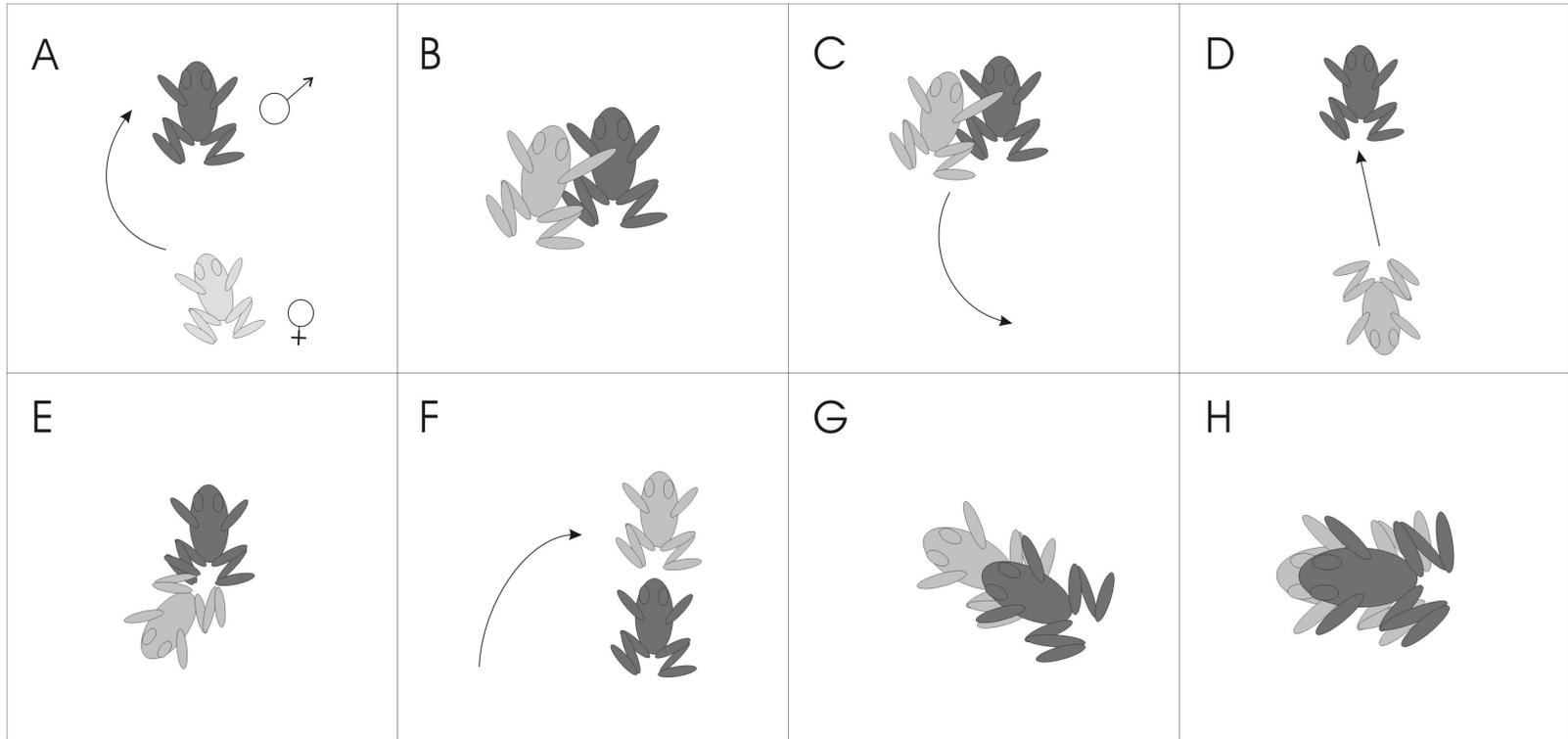
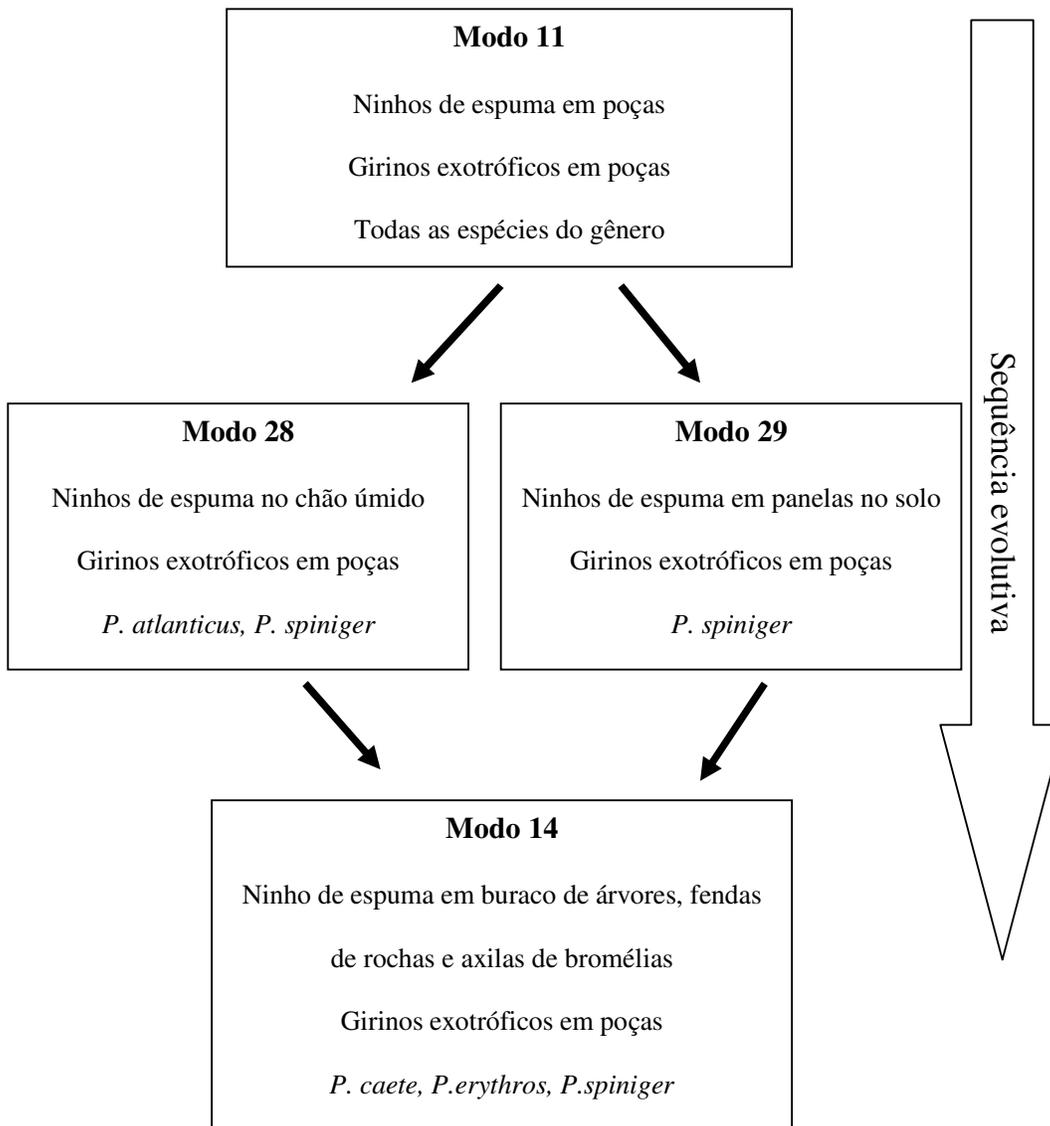


Figura 8



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.

A espécie pode vocalizar mesmo durante o dia, apesar de apresentar hábito predominantemente noturno. As fêmeas da espécie apresentam ovogênese assíncrona, que as permite realizar mais de uma desova durante a estação reprodutiva 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 (três modos), sendo que o modo 14 apresenta a variação de que ninhos de espuma também podem ocorrer em depressões no solo. 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

***PHYSALAEEMUS 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 *Physalaemus 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.

