

ELOISA MARIA WISTUBA

**HISTÓRIA NATURAL DE *Brachycephalus pernix*  
POMBAL, WISTUBA & BORNSCHEIN, 1998  
(ANURA) NO MORRO ANHANGAVA, MUNICÍPIO  
DE QUATRO BARRAS, ESTADO DO PARANÁ.**

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

Orientador: Emygdio Leite Araujo Monteiro Filho

CURITIBA

1998

**ELOISA MARIA WISTUBA**

**HISTÓRIA NATURAL DE *Brachycephalus pernix***

**POMBAL, WISTUBA & BORSCHHEIN, 1998**

**(ANURA) NO MORRO ANHANGAVA, MUNICÍPIO**

**DE QUATRO BARRAS, ESTADO DO PARANÁ.**



CURITIBA

1998

As tiras a seguir ilustram bem o meu sentimento quando chegava no Anhangava, e encontrava por todo o Morro, lixo e sinais de vandalismo dos visitantes após um final de semana ou feriado.



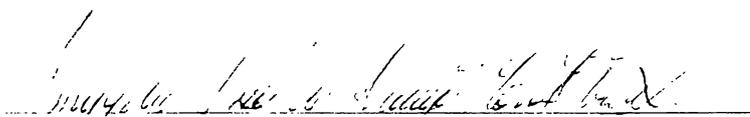


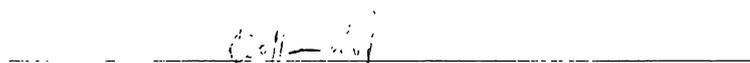
ÀS VEZES EU ACHO QUE O SINAL MAIS EVIDENTE DE QUE EXISTE VIDA INTELIGENTE EM ALGUM LUGAR DO UNIVERSO, É O DE QUE NINGUÉM ATÉ AGORA TENTOU ENTRAR EM CONTATO CONOSCO.

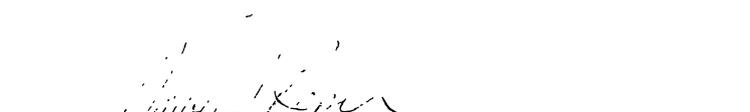
por

*Eloisa Maria Wistuba*

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Biológicas na área de Zoologia, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores

  
Enygdio Leite de Araujo Monteiro Filho - UFPR

  
José Pérez Pombal Junior - UFRJ

  
James Joseph Roper - UFPR

"Dedicada à Natureza presente no Morro Anhangava, a qual compensava todo o cansaço gostoso (como diria minha amiga Patê) após um dia de campo".

# SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS.</b>	<b>1</b>
<b>APRESENTAÇÃO.</b>	<b>3</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>6</b>
<b>CAPÍTULO I: ATIVIDADE DIÁRIA E INTERAÇÕES INTRAESPECÍFICAS DE <i>Brachycephalus pernix</i> (ANURA: BRACHYCEPHALIDAE) NA FLORESTA OMBRÓFILA DENSE ALTO-MONTANA NO MORRO ANHANGAVA, MUNICÍPIO DE QUATRO BARRAS, ESTADO DO PARANÁ, BR.</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>12</b>
<b>RESUMO</b>	<b>13</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>16</b>
Área de estudo	16
Dados climáticos	17
Número de indivíduos visualizados	18
Vocalização	18
Comportamento	19
Densidade populacional	19
<b>RESULTADOS</b>	<b>20</b>
Atividade diária	20
Vocalização	22
Comportamento	23
Densidade populacional	27
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>27</b>
Atividade diária	27
Vocalização	28
Comportamento	30
Densidade populacional	36
<b>AGRADECIMENTOS</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>38</b>

<b>Tab. 1 - Amplitudes e médias anuais de temperatura e umidade relativa do ar e do solo no ano de 1997, mensuradas no interior da floresta ombrófila densa alto-montana, no Morro Anhangava, Município de Quatro Barras, PR.</b>	46
<b>Tab. 2 - Resultados obtidos através da Correlação de Spearman entre os valores das médias mensais dos dados e a atividade diária de <i>B. pernix</i> na floresta ombrófila densa alto-montana do Morro Anhangava, Município de Quatro Barras, PR.</b>	47
<b>Tab. 3 - Diferenças apresentadas nas características espectrais e temporais entre os sonogramas das vocalizações de <i>B. pernix</i> e <i>B. ephippium</i>.</b>	48
<b>LEGENDAS DAS FIGURAS</b>	49
<b>Fig. 1 - Localização da área de estudo.</b>	51
<b>Fig. 2 - Médias mensais dos dados climáticos (A) e da atividade diária de <i>Brachycephalus pernix</i> (B) registrados na floresta ombrófila densa alto-montana, no Morro Anhangava, Município de Quatro Barras, PR.</b>	52
<b>Fig. 3 - Sonogramas da vocalização de <i>B. pernix</i> com amplo espectro de energia (A). Detalhes das notas formadas por dois pulsos (B) e por três pulsos (C).</b>	53
<b>Fig. 4 - Comportamento de limpeza de <i>B. pernix</i>. Movimento realizado com a mão (A) e com o pé (B).</b>	53
<b>Fig. 5 - Comportamento agonístico (comunicação visual) de <i>B. pernix</i>.</b>	54
<b>Fig. 6 - Comportamento agonístico (combate físico) de <i>B. pernix</i>.</b>	55
<b>CAPÍTULO II: HÁBITO E COMPORTAMENTO ALIMENTAR</b>	
<b>DE <i>Brachycephalus pernix</i> (ANURA: BRACHYCEPHALIDAE).</b>	56
<b>ABSTRACT</b>	57
<b>RESUMO</b>	58
<b>INTRODUÇÃO</b>	59
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	60
Análise do conteúdo gastro-intestinal	60
Análise da fauna da serapilheira	62
Análise comparativa dos itens presentes na dieta e a fauna encontrada na serapilheira	62
Observações naturalísticas	63
<b>RESULTADOS</b>	63
Análise do conteúdo gastro-intestinal	63
Análise da fauna da serapilheira	65
Análise comparativa dos itens presentes na dieta e a fauna encontrada na serapilheira	66
Observações naturalísticas	66

<b>DISCUSSÃO</b>	<b>67</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b>	<b>71</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>71</b>
<b>Tab. 1 – Fauna da serapilheira na floresta ombrófila densa alto-montana no Morro Anhangava e itens alimentares do conteúdo gastro-intestinal de <i>B. pernix</i> expressos em frequência de ocorrência e frequência numérica.</b>	<b>76</b>
<b>CAPÍTULO III: MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS DA EPIDERME DE <i>Brachycephalus pernix</i> (ANURA: BRACHYCEPHALIDAE).</b>	<b>77</b>
<b>RESUMO</b>	<b>78</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>78</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>80</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>81</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b>	<b>83</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>84</b>
<b>LEGENDA DAS FIGURAS</b>	<b>88</b>
<b>Fig. 1 – Fotomicrografia óptica da epiderme dorsal de <i>B. pernix</i> (H.E.). Aumento: 400X.</b>	<b>89</b>
<b>Fig. 2 - Fotomicrografia óptica da epiderme dorsal de <i>B. pernix</i>: 2A) glândula mucosa (P.A.S. com Verde Luz), 2B) glândula granular (H.E.). Aumento: 1.000X.</b>	<b>89</b>

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> Emygdio Leite Araujo Monteiro Filho pela orientação, incentivo à minha formação profissional, confiança no meu trabalho e amizade.

Aos amigos Aduino, Adolf, Luiz Fernando, Marcelo, Patricia, Paula, Richard e Silvia, um agradecimento especial por se preocuparem com a minha segurança, me acompanharem e auxiliarem frequentemente no meu trabalho de campo sempre com disposição e bom humor, mesmo nos dias nos quais o melhor a fazer era ficar debaixo das cobertas ou dentro de uma piscina.

Aos amigos e colegas Ana Teresa, Andreia, André, Antônio, Carlinha, Fabiano, Free, João, Juliana, Leco, Luiz Mestre, Lutra, Marina Amaral, Marcus, Mauro, Paulinha, Popa e Roseli pela companhia e auxílio no campo.

Aos biólogos e amigos Luiz G. dos Santos-Neto, Maurício O. Moura e Dalton Tadeu R. dos Santos pelo auxílio na identificação dos itens alimentares. Assim como, aos professores Vinalto Graff e Danúncia Urban pela identificação dos himenópteros.

Ao biólogo e amigo Luiz Fernando Ribeiro pela confecção do mapa e à bióloga e amiga Ana Lúcia Prudente pela realização dos desenhos iniciais e pela paciência de me ensinar a desenhar.

Ao Laboratório de Impacto Ambiental da UFPR por conceder a utilização da infra-estrutura, pelo auxílio no processamento do material e pelas produtivas discussões

que tivemos, agradeço em especial à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Edith S. Fanta, Silvia R. Z. da Cruz, Prof.<sup>a</sup> Ms. Sonia Grötzner, Ana Cristina C. Vianna, Lucélia Donatti e Paula Nakayama.

À Juliana Quadros pela tradução para o inglês e a Walter A. Boeger pela revisão do abstract.

Ao Prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> José Perez Pombal Jr. pela atenção, colaboração e sugestão nos manuscritos.

Ao pessoal do Laboratório de Mamíferos da UFPR pelas conversas descontraídas e produtivas.

Ao Richard por cuidar de mim, pelo amor, amizade, paciência e carinho, sendo meu companheiro durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais, um agradecimento especial por todo amor, apoio e incentivo à minha formação pessoal, acadêmica e profissional.

À Pós-Graduação em Zoologia da UFPR, representada pelos coordenadores Paulo de Tarso Chaves e Walter A. Boeger pelo incentivo, apoio e confiança durante o período que estive vinculada ao curso, e à Vera pela atenção.

À CAPES e CNPq pela bolsa de estudos e pelo fomento de gastos com o trabalho.

## APRESENTAÇÃO

O estudo sobre anfíbios anuros no Estado do Paraná tem sido quase que inexistente. Tanto a composição da anurófauna paranaense quanto o conhecimento de dados biológicos e ecológicos são comumente obtidos a partir de estudos realizados em outras regiões do país, particularmente na região sudeste.

A maioria dos dados sobre história natural de anuros é incompleta, fragmentada e limita-se a informações na forma de pequenas notas, sendo raros os estudos detalhados sobre uma dada espécie, especialmente na Região Neotropical (Martins, 1990; Pombal, 1992). Estudos ecológicos envolvendo análise de comunidades tem se ressentindo da falta de dados observacionais a nível de indivíduos, indicando uma necessidade de estudos de história natural, pois tais informações podem servir de base para modelos ecológicos (Krebs, 1989).

Mais recentemente, novas informações a respeito da história natural de anuros tem sido dadas por diversos autores, abordando aspectos como, comportamento social, incluindo comunicação e territorialidade (Pombal, *et al.*, 1994; Bastos & Haddad, 1995; Ovaska & Caldbeck, 1997; Haddad & Giaretta; no prelo), atividade reprodutiva (Graybeal & Queiroz, 1992; Pombal, *et al.*, 1994; Bastos & Haddad, 1996; Barandun & Reyer, 1998), desenvolvimento (Andrade & Cardoso, 1991; Singer & Gutiérrez, 1997; Pombal, no prelo), alimentação (Simon & Toft, 1991; Wiggins, 1992; Newman, 1994; Giaretta, *et al.*, 1998), predação (Nunes, 1988; Love, 1995; Babbitt & Jordan, 1996;

Castanho, 1996) e defesa (Martins, 1989; Wayne & Shewchuk, 1995; Lefcort, 1996, Manzanilla, *et al.*, 1998).

Para a família Brachycephalidae Günther, há um interesse especial no estudo da história natural, devido à escassez de informações sobre a família como um todo. Todos os representantes da família são restritos à Floresta Atlântica com distribuição desde o Estado da Bahia até o Estado do Paraná (Frost, 1985; Duellman & Trueb, 1986; Pombal *et al.*, 1998). É composta por dois gêneros: *Psyllophryne* Izecksohn, com apenas uma espécie, *Psyllophryne didactyla* Izecksohn, 1971, conhecida apenas no Estado do Rio de Janeiro (Izecksohn, 1971) e *Brachycephalus* Fitzinger, com três espécies. *Brachycephalus ephippium* (Spix) era a única espécie reconhecida para o gênero (Frost, 1985; Duellman & Trueb, 1986) até 1990, quando Heyer *et al.* (1990) sugeriram que *Brachycephalus nodoterga* Miranda-Ribeiro fosse reconhecida como espécie válida. Mais recentemente uma nova espécie, a qual é objeto deste estudo, foi descrita para o sul do país, particularmente para o Estado do Paraná (Pombal *et al.*, 1998). Contudo, o número de espécies deste gênero ainda deve aumentar, tendo em vista, o fato de que vários autores sugerem a possibilidade de haver mais de uma espécie confundida sob o nome de *B. ephippium* (Heyer *et al.*, 1990; Haddad & Sazima, 1992; Pombal *et al.*, 1998).

Todas as espécies do gênero ocupam habitats similares vivendo sob a serapilheira. São diurnos e podem ser encontrados caminhando no chão da floresta (Heyer *et al.*, 1990; Haddad & Sazima, 1992; Pombal *et al.*, 1994; Pombal *et al.*, 1998). Pombal (1992) estudando a história natural de *B. ephippium*, a espécie melhor estudada

da família, obteve dados sobre o período de atividades (diurno e sazonal), hábito alimentar, comportamento social e vocal, época e modo de reprodução, além de descrição das fases de desenvolvimento.

Para *Brachycephalus pernix* Pombal, Wistuba & Borschein, 1998 são poucas as informações sobre sua biologia. A espécie foi descrita para o Estado do Paraná, conhecida apenas na localidade tipo. Sua distribuição é o registro mais ao sul do gênero *Brachycephalus* e conseqüentemente para a família Brachycephalidae (Pombal *et al.*, 1998). A nova espécie foi estudada na localidade tipo no Morro Anhangava, situado na Serra da Baitaca, Conjunto Marumbi (25<sup>o</sup> 22'S; 48<sup>o</sup> 58'W), Município de Quatro Barras, Estado do Paraná. No local de estudo, a cerca de 1.400 metros de altitude, a vegetação corresponde à floresta ombrófila densa alto-montana (Roderjan, 1994), a qual é considerada uma formação vegetal rara, devido estar exposta às condições extremas como os ambientes de altitudes, ocupando cerca de 5,2% da Serra da Baitaca (Roderjan & Struminski, 1992).

O Morro Anhangava de um modo geral, tem sofrido forte efeito da atividade mineradora e ação humana, pois os visitantes fazem fogueiras e corte de árvores. abrem clareiras e deixam o lixo no local. Estes danos causados pelos visitantes dificultam o crescimento desta floresta que possui recuperação muito lenta. (Struminski & Lorenzetto, 1997). Porém, no final do ano de 1996, o Morro Anhangava tornou-se um local visado para assaltos, apresentando riscos e isto contribuiu para diminuir consideravelmente a visitação, principalmente os acampamentos no cume. Este fato, dificultou meu trabalho devido depender de pessoas para me acompanharem e por deixar

de utilizar equipamentos no campo. Mas, poderá auxiliar no crescimento da vegetação pioneira, importante na recuperação da floresta. Neste período de menor visitação, foram observados também, indivíduos de *B. pernix* caminharem mais frequentemente sobre a serapilheira e nas trilhas.

Assim, tendo em vista a carência de informações, o meu objetivo foi obter dados acerca da história natural de *B. pernix*, cuja espécie está ameaçada pela degradação ambiental e cuja biologia era totalmente desconhecida, o que é quase constante para a maioria das espécies que compõe a família Brachycephalidae. O trabalho tenta suprir também, a carência de informações sobre biologia e composição da anurofauna que existe para o Estado do Paraná.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, G. V. & CARDOSO, A. J. 1991. Descrição de larvas e biologia de quatro espécies de *Hyla* (Amphibia, Anura). Rev. Brasil. Biol 51:391-402.
- BABBITT, K. J. & JORDAN, F. 1996. Predation on *Bufo terrestris* tadpoles: effects of cover and predator identity. Copeia 1996:485-488.
- BARANDUN, J. & REYER, H. U. 1998. Reproductive ecology of *Bombina variegata*: habitat use. Copeia 1998:497-500.
- BASTOS, R. P. & HADDAD, C. F. B. 1995. Vocalizações e interações acústicas de *Hyla elegans* (Anura, Hylidae) durante a atividade reprodutiva. Naturalia 20:165-176.

- \_\_\_\_\_ & HADDAD, C. F. B. 1996. Breeding activity of the neotropical treefrog *Hyla elegans* (Anura, Hylidae). J. Herpetol. 30:355-360.
- CASTANHO, L. M. 1996. *Phyllomedusa distincta* (leaf-frog). Predation. Herp. Review 27:141.
- DUELLMAN, W. E. & TRUEB, L. 1986. Biology of Amphibians. McGraw-Hill, New York.
- FROST, D. R. (ed.) 1985. Amphibian Species of the World. A Taxonomic and Geographical Reference. Allen Press Inc., and Association of Systematics Collections, Lawrence, Kansas.
- GIARETTA, A. A.; ARAÚJO, M. S.; MEDEIROS, H. F. & FACURE, K. 1998. Food habits and ontogenetic diet shifts of the litter dwelling frog *Proceratophrys boiei* (Wied, 1825). Revta. bras. de Zool. 15:385-388.
- GRAYBEAL, A. & QUEIROZ, K. 1992. Inguinal amplexus in *Bufo fastidiosus*, with comments on the systematics of bufonid frogs. J. Herpetol. 26:84-87.
- HADDAD, C. F. & SAZIMA, I. 1992. Anfíbios anuros da serra do Japi. In: L.P.C. Morellato (ed.), História Natural da Serra do Japi: Ecologia e Preservação de uma Área Florestal no Sudeste do Brasil, 188-211p. Editora da Unicamp/FAPESP, Campinas.
- \_\_\_\_\_ & GIARETTA, A. A. (no prelo). Visual and acoustic communication in the brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura, Leptodactylidae). Herpetologica.
- HEYER, W. R.; RAND, A. S.; CRUZ, A. G.; PEIXOTO, O. L. & NELSON, C. E. 1990. Frogs of Boraceia. Arq. Zool. (S. Paulo) 31:231-410.

- IZECKSOHN, E. 1971. Novo gênero e nova espécie de Brachycephalidae do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Bol. Mus. Nac. (Zool.) 280:1-12.
- KREBS, C. J. 1989. Ecological Methodology. Harper & Row, Publishers, New York.
- LEFCORT, H. 1996. Adaptive, chemical mediated fright response in tadpoles of the southern leopard frog, *Rana utricularia*. Copeia 1996:455-459.
- LOVE, W. B. 1995. *Osteopilus septentrionalis* (cuban treefrog). Predation. Herp. Review 26:201-202.
- MANZANILLA, J.; MARCA, E.; VILLAREAL, O. & SANCHEZ, D. 1998. *Phrynohyas venulosa* (veined treefrog, “rana lechosa”). Antipredator device. Herp. Review 29:39-40.
- MARTINS, M. 1989. Deimatic behavior in *Pleurodema brachyops*. J. Herpetol. 23:305-307.
- MARTINS, M. 1990. História natural do sapo ferreiro (*Hyla faber*, WIED) na região de Campinas, Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, não publicada, apresentada no Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- NEWMAN, R. A. 1994. Effects of changing density and food level on metamorphosis of a desert amphibian, *Scaphiopus couchii*. Ecology 75:1085-1096.
- NUNES, V.S. 1988. Vocalizations of treefrogs (*Smilisca sila*) in response to bat predation. Herpetologica 44:8-10.

- OVASKA, K. E. & CALBECK, J. 1997. Courtship behavior and vocalization of the frogs *Eleutherodactylus antillensis* and *Eleutherodactylus cochranae* on the British Virgin Islands. *J. Herpetol.* 31:149-155.
- POMBAL, J. P. Jr. 1992. História natural de *Brachycephalus ephippium* (Anura, Brachycephalidae), na região de Campinas, Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, não publicada, apresentada no Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- \_\_\_\_\_; SAZIMA, I. & HADDAD, C. F. B. 1994. Breeding behavior of the pumpkin toadlet, *Brachycephalus ephippium* (Brachycephalidae). *J. Herpetol.* 28:516-519.
- \_\_\_\_\_; WISTUBA, E. M. & BORSCHHEIN, M. R. 1998. A new species of Brachycephalid (Anura) from the Atlantic Rain Forest of Brazil. *J. Herpetol.* 32:70-74.
- \_\_\_\_\_. (submetido). Oviposição e desenvolvimento de *Brachycephalus ephippium* (Anura, Brachycephalidae). *Revta. bras. Zool.*
- RODERJAN, C. V. & STRUMINSKI, E. 1992. Caracterização e proposta de manejo da serra da Baitaca, Quatro Barras, PR. FUFEP/Fundação “O Boticário de Proteção à Natureza”, Curitiba.
- \_\_\_\_\_. 1994. O gradiente da floresta ombrófila densa no Morro Anhangava, Quatro Barras, PR. Aspectos climáticos, pedológicos e fitossociológicos. Dissertação de Doutorado, não publicada, apresentada no Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

- SIMON, M. P. & TOFT, C. A. 1991. Diet specialization in small vertebrates: mites-eating in frogs. *Oikos* 61:263-278.
- SINGER, R. B. & GUTIÉRREZ, M. 1997. Reproducción y desarrollo larval del sapo enano *Melanophryniscus stelzneri* (Weyem-Berg, 1875) (Anura: Bufonidae). *Cuadernos de Herpetología* 11: 21-30.
- STRUMINSKI, E. & LORENZETTO, A. 1997. O perfil do escalador paranaense. *Temas de Gaia* 1:01-22.
- WAYE, H. L. & SHEWCHUK, C. H. 1995. *Scaphiopus intermontanus* (great basin spadefoot). Production of odor. *Herp. Review* 26:98-99.
- WIGGINS, D. A. 1992. Foraging success of leopard frogs (*Rana pipiens*). *J. Herpetol.* 26:87-88.

**CAPÍTULO I: Atividade Diária e Interações Intraespecíficas  
de *Brachycephalus pernix* (Anura: Brachycephalidae) na  
Floresta Ombrófila Densa Alto-Montana no Morro Anhangava,  
Município de Quatro Barras, Estado do Paraná, BR.**

**(Manuscrito a ser submetido a revista Journal of Herpetology)**

## ***ABSTRACT***

*Brachycephalus pernix* is found in the Anhangava Mountain, Quatro Barras Town, Paraná State. It is diurnal, dwelling in the leaf litter in the mountane dense ombrophyllous forest, characteristic of this region, at about 1400 m above sea level. In this study, naturalistic observations were carried out from November 1996 to December 1997. Individual behaviours (displacement, cleaning, defense and vocalizations) and intraspecific interactions are described. The species was more active during the warmer months (October to December) and temperature and number of active individual influenced vocalization activity. Male calls were short, of one note, with two to three pulses and enphatic frequencies ranging between 4.49kHz and 6.74 kHz.

**KEYWORDS:** *Brachycephalus*, Paraná, vocalization, behavior patterns, climate factors, density.

**ATIVIDADE DIÁRIA E INTERAÇÕES INTRAESPECÍFICAS  
DE *Brachycephalus pernix* (ANURA: BRACHYCEPHALIDAE)  
NA FLORESTA OMBRÓFILA DENSA ALTO-MONTANA NO  
MORRO ANHANGAVA, MUNICÍPIO DE QUATRO BARRAS,  
ESTADO DO PARANÁ - BRASIL.**

*RESUMO* - *Brachycephalus pernix* é encontrado durante o dia, caminhando sobre a serapilheira na floresta ombrófila densa alto-montana no Morro Anhangava, Município de Quatro Barras, Estado do Paraná, a cerca de 1.400 m de altitude. O estudo foi realizado no período de novembro de 1996 a dezembro de 1997, através de observações naturalísticas. São descritos comportamentos individuais como, deslocamento, limpeza, defesa e vocalização, assim como, interações intraespecíficas: comunicação visual e combates físicos. A espécie foi mais ativa nos meses mais quentes e úmidos do ano (outubro a dezembro) e a atividade de vocalização foi influenciada pela temperatura e pelo número de indivíduos ativos. As vocalizações emitidas pelos machos foram curtas, compostas por uma única nota, com 2 a 3 pulsos com banda de frequência enfatizada de 4,49 a 6,74 kHz.

A diversidade, a abundância e as atividades das espécies dos anuros tais como, reprodução, migração e vocalização são influenciadas pelos fatores climáticos como as chuvas, temperatura e umidade relativa do ar (Banks & Beebee, 1986; Sullivan, 1987; Sinsch, 1988; Cree, 1989; Fukuyama & Kusano, 1992; Giaretta *et al.*, 1997; Pröhl, 1997). Estas relações são descritas tanto para anuros das regiões de clima temperado como para as espécies de regiões de clima tropical (Andrade & Cardoso, 1991; Ritke *et al.*, 1992; Galatti, 1992; Lizana *et al.*, 1994; Pombal *et al.*, 1994). Porém, a maioria dos estudos limitam-se a apresentar as relações entre atividade da espécie e fatores climáticos apenas durante a atividade reprodutiva, sendo poucos os trabalhos que trazem informações detalhadas sobre a atividade diária da espécie, seu comportamento e suas interações intraespecíficas em um ciclo anual (Wells, 1980a).

No estudo agora apresentado, os aspectos estudados da atividade diária são a vocalização, os comportamentos individuais (deslocamento, defesa e limpeza) e interações intraespecíficas, como sinalização visual e combates físicos.

A vocalização é o aspecto melhor estudado entre as espécies dos anuros devido ao fato da comunicação acústica ser um aspecto essencial de sua biologia reprodutiva (Allan & Simmons, 1994), sendo conhecidas poucas espécies aparentemente mudas (Giaretta *et al.*, 1993). As vocalizações podem apresentar diversas funções, incluindo reconhecimento específico e defesa de território (Duellman & Trueb, 1986; Haddad, 1995; Bastos & Haddad, 1995). Os anuros podem defender território para assegurar sítios de canto, oviposição e de alimentação (Wells, 1977). A defesa de tais sítios ocorre através de encontros agonísticos, os quais podem envolver desde vocalizações agressivas

até combates físicos, citados para diversas espécies de anuros (Haddad, 1987; Sinsch & Joermann, 1989; Martins, 1990).

Embora, os sinais acústicos sejam a forma mais comum de comunicação observada entre os anuros, a comunicação visual está presente em alguns gêneros como: *Brachycephalus*, *Atelopus*, *Dendrobates*, *Litoria*, *Hylodes*, *Taudactylus*, *Staurois* (Lindquist & Hetherington, 1996) e *Phyllomedusa* (Haddad & Giaretta, no prelo).

Com exceção de *Phyllomedusa* e *Litoria*, os demais gêneros possuem atividade diurna, o que pode indicar que a evolução da comunicação visual em muitas espécies foi favorecida, aparentemente, pela disponibilidade da luz do ambiente (Lindquist & Hetherington, 1996).

A família Brachycephalidae Günther é composta por dois gêneros e quatro espécies: *Brachycephalus ephippium* (Spix), *Brachycephalus nodoterga* Miranda-Ribeiro, *Brachycephalus pernix* Pombal, Wistuba & Borschein e *Psyllophryne didactyla* Izecksohn. Os representantes desta família estão restritos à Floresta Atlântica, com distribuição desde o sul do Estado da Bahia até o Estado do Paraná (Frost, 1985; Duellman & Trueb, 1986) e ocupam habitats similares vivendo sob a serapilheira. São diurnos e podem ser encontrados em grande número nas manhãs ensolaradas (Izecksohn, 1971; Heyer *et al.*, 1990; Haddad & Sazima, 1992; Pombal *et al.*, 1998).

*Brachycephalus ephippium*, a espécie melhor estudada, é ativa nos meses mais quentes e úmidos do ano, sendo a umidade relativa do ar o principal fator a influenciar seu período de atividade (Pombal, 1992). Machos e mais raramente fêmeas, sinalizam visualmente com auxílio das mãos durante encontros com outros indivíduos e os machos

defendem seus territórios com encontros agonísticos escalonados. O amplexo de *B. ephippium* é inguinal, com a fêmea manipulando os ovos após a desova e deixando-os com a superfície coberta por partículas do solo (Pombal *et al.*, 1994). O desenvolvimento é direto e após 64 dias de desenvolvimento o jovem eclodido apresenta coloração castanha-avermelhada (Pombal, no prelo).

*Brachycephalus pernix* é uma espécie escrita recentemente (Pombal *et al.*, 1998). Informações a respeito de sua biologia são limitadas, o que acontece para a maioria das espécies que compõem a família Brachycephalidae. Assim, considerando a necessidade em conhecer aspectos da biologia da família, este estudo tem como objetivo obter informações acerca da atividade diária e das interações intraespecíficas de *B. pernix*, além de correlacionar a atividade de vocalização e o número de indivíduos ativos com os fatores climáticos durante um ciclo anual.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Área de estudo.*

O Morro Anhangava corresponde à maior elevação da Serra da Baitaca, uma das ramificações da Serra do Mar, localizada entre os Municípios de Quatro Barras e Piraquara, Estado do Paraná, sul do Brasil (25° 22'S; 48° 58'W) (Fig.1). Sua base está a cerca de 1.100 m do nível do mar e o cume a 1.420 m. O clima regional é do tipo Cfb segundo a classificação de Köeppen, caracterizado por uma estação quente e chuvosa no verão e fria com eventuais períodos secos no inverno (Maack, 1981).

No local de estudo, localizado próximo ao cume, a vegetação corresponde à floresta ombrófila densa alto-montana segundo a classificação de IBGE (1992), com altura média de 4 m e grande densidade vegetal (4.418 indivíduos/ha) (Roderjan, 1994). Segundo Roderjan & Struminski (1992), a área total da floresta alto-montana no Morro Anhangava é de 134 ha. O solo é acidentado e íngreme apresentando uma cobertura contínua e densa de serapilheira. O interior da mata é bem sombreado e com pouca incidência de luz, ocorrem elevados índices pluviométricos mensais e alta umidade relativa do ar (aproximadamente 90% de média anual), além de grande nebulosidade (Roderjan, 1994).

## PROCEDIMENTOS

### *Dados climáticos.*

A fim de correlacionar a atividade da espécie com alguns parâmetros climáticos, foram amostrados a cada visita temperatura e umidade relativa do ar e do solo no interior da floresta. A temperatura e umidade do ar foram obtidas através de um termohigrômetro de mercúrio com precisão de 0,5<sup>0</sup> C e a temperatura do solo por meio de um termômetro de mercúrio, enterrado a 10 cm da superfície com precisão de 0,2<sup>0</sup> C. A umidade do solo foi medida com um papel filtro, o qual era deixado em contato com a serapilheira por cinco minutos. Para a leitura da umidade relativa, foi utilizada uma régua com escala em centímetros, considerando o ponto mais elevado de absorção de água multiplicado por 10.

### *Número de indivíduos visualizados.*

Foram coletados e fixados 10 indivíduos depositados no Museu de História Natural “Capão da Imbuia” como espécimens testemunhos (MHNCI 3563-72), um dos indivíduos constitui um jovem (3572).

Com o objetivo de estimar o número de indivíduos ativos em cada visita, foi percorrida uma trilha com 241 m de extensão, sendo anotados o número de indivíduos observados e seu comportamento. Os registros do número de indivíduos visualizados são apresentados na forma de médias mensais.

### *Vocalização.*

Para conhecer e descrever a vocalização da espécie durante o período de estudo foram realizadas gravações das vocalizações no ambiente natural com o auxílio de um gravador Sony Digital Audio Record - DAT, modelo TCDD8 e um microfone direcional Sennheiser, modelo ME66. As análises sonográficas foram feitas no microcomputador MacIntosh com auxílio do programa Canary 1.2.1 (Cornell Laboratory of Ornithology).

Visando a conhecer o ritmo de vocalização, a cada visita de campo foi estimada a média diária de vocalização. Os registros diários de vocalização foram feitos no mínimo em cinco sessões de amostragens com intervalos de 30 minutos. Cada sessão consistiu em três amostragens com duração de um minuto e intervalo de 30 segundos. Dentro de cada minuto foram contadas quantas vocalizações eram emitidas por um indivíduo. Assim, para a obtenção das médias diárias utilizei as médias de cada sessão realizadas no dia (A. J. Cardoso, comunic. pessoal), conforme a fórmula abaixo:

$$\bar{X}_d = \frac{\sum \bar{X}_s}{N}$$

onde  $\bar{X}_d$  = média diária do ritmo de vocalização,  $\sum \bar{X}_s$  = somatório das médias das sessões e, N = número de sessões do dia.

Os resultados de ritmo diário de vocalização foram correlacionados e discutidos juntamente com os dados climáticos e número de indivíduos visualizados com o auxílio da Correlação de Spearman (Zar, 1996).

#### *Comportamento.*

Visando a obtenção das informações sobre a atividade diária da espécie em estudo, realizei observações naturalísticas em visitas semanais diurnas entre novembro de 1996 a dezembro de 1997. Para as observações, adotei um misto dos métodos de animal focal e amostragem sequencial (cf. Lehner, 1979), registrando o comportamento individual dos animais fora e durante o período reprodutivo, assim como as interações intra e intersexuais.

#### *Densidade populacional.*

No mês de janeiro de 1998, para a estimativa da densidade populacional de *B. pernix* foi utilizado o método de quadrantes (Krebs, 1989), sendo amostrado um quadrante de 1m x 1m em três pontos com características fitofisionômicas diferentes, representando os ambientes no interior da floresta. Todos os indivíduos encontrados foram coletados e, posteriormente a contagem, devolvidos ao ambiente. O primeiro

ponto compreendeu um trecho da trilha e borda da serapilheira, o segundo ponto compreendeu borda e interior da vegetação e o terceiro ponto, interior da vegetação.

## RESULTADOS

Por um período de 13 meses (novembro/96 a dezembro/97), foi possível realizar no total 420 horas de observações naturalísticas de *B. pernix*. No entanto, os dados de número de indivíduos visualizados, ritmo diário de vocalização e fatores climáticos são referentes apenas ao ano de 1997, devido ao fato dos dados climáticos terem sido mensurados, somente, durante este ano.

### *Atividade diária.*

Os meses nos quais foram obtidas as maiores temperaturas do ar foram de janeiro a março e de setembro a dezembro, sendo obtida uma média anual de 16,4<sup>o</sup> C. As médias mensais da temperatura do solo variaram muito pouco ao longo do ano, sendo que as médias mais altas ocorreram de janeiro a abril e de novembro a dezembro (média anual = 13,9<sup>o</sup> C). Quanto a umidade relativa do ar, os meses mais úmidos foram janeiro, abril a julho e outubro a dezembro. Apresentando, portanto, apenas dois curtos períodos secos, de fevereiro a março e de agosto a setembro (média anual de 85,9%). Porém, as médias mensais de umidade relativa do solo variaram muito ao longo do ano, mas apenas, em quatro meses (março, abril, junho e agosto) foram obtidas médias mensais baixas, sendo a média anual 22,75% (Ver Tab.1 e Fig.2A).

O maior número de indivíduos visualizados e os maiores valores de ritmo diário de vocalização (Fig.2B) foram registrados nos meses mais quentes (temperatura do ar acima de 17,5<sup>o</sup> C) e úmidos (umidade relativa do ar acima de 89%; umidade relativa do solo acima de 20%) do ano (Fig.2A). Nestes meses, a média do número de indivíduos visualizados por dia foi 31,5 indivíduos e a média do ritmo diário de vocalização foi igual a 3,1 vocalizações por minuto, ao passo que nos meses menos ativos as médias respectivas foram iguais a 5,3 indivíduos visualizados/dia e 1,3 vocalizações/minuto.

A temperatura do ar apresentou correlações significativas com a atividade da espécie, tanto para o número de indivíduos visualizados ( $R = 0,6736$ ,  $p < 0,05$ ) quanto para o ritmo diário de vocalização ( $R = 0,6608$ ,  $p < 0,05$ ), sendo que o ritmo diário de vocalização foi altamente correlacionado com o número de indivíduos visualizados ( $R = 0,9387$ ,  $p < 0,001$ ). Os demais parâmetros climáticos analisados tiveram correlações positivas mas, não significativas com a atividade de *B. permix*. Portanto, correlacionando número de indivíduos visualizados com temperatura do solo, umidade relativa do ar e do solo, foram obtidas as seguintes correlações: R igual a 0,2315; 0,3496; 0,3796, respectivamente, com valor de  $p > 0,05$  igual para todos os parâmetros (Tab.2); e para ritmo diário de vocalização foram obtidos os seguintes valores: R igual a 0,2196; 0,3817; 0,3591, respectivamente, também com  $p > 0,05$  para todos (Tab.2). Apesar disto, as condições do solo parecem ser importantes na atividade diária da espécie pois, em vários dias, muitos indivíduos estavam ativos mesmo com a temperatura e a umidade relativa do ar baixas, entretanto, tanto a temperatura do solo quanto a umidade relativa do solo registravam valores acima das médias anuais (Fig.2A e Tab.1).

### *Vocalização.*

Geralmente, os indivíduos de *B. pernix* vocalizavam sob o folheto. Porém, em seis ocasiões nos meses de outubro a janeiro, observei indivíduos vocalizando sobre a serapilheira. Nestas ocasiões, o animal mantinha os membros anteriores distendidos, permanecendo com a porção anterior do corpo afastada do substrato e com as mãos, uma voltada em direção a outra. As pernas eram mantidas semi-flexionadas. O saco vocal gular e visível era inflado durante a vocalização e o abdômen era movimentado com rapidez.

As vocalizações emitidas pelos machos de *B. pernix* foram registradas principalmente quando havia outros indivíduos próximos, mas podia ocorrer também indivíduos vocalizando isolados. Durante vários dias ao longo do período seco, não foram encontrados indivíduos vocalizando. A espécie em estudo possui um canto semelhante a um estalido (“pri”) de duração curta, audível até mesmo fora da mata nos dias com alta atividade de vocalização. Em 11 ocasiões, foi registrado o número total de vocalizações emitidas por cada um dos indivíduos e o tempo despendido. As sessões de emissões de vocalizações tiveram duração entre 1,02 minuto a 3,20 minutos, sendo emitidas de 5 a 19 vocalizações ( $X = 9,3 \pm 4,248$  vocalizações). O intervalo entre as sessões de emissões de vocalizações em média foi de 5 minutos.

Através de análise sonográfica, foi possível verificar que as vocalizações são constituídas por uma nota formada por dois a três pulsos com amplo espectro de energia (Fig.3A). Quando a nota é constituída por dois pulsos a frequência enfatizada encontra-se entre 4,4 e 6,7 kHz, com duração média de  $31,0 \pm 0,002$  ms ( $n = 22$ ) e o intervalo

entre os pulsos é de 5,77 ms (Tab.3 e Fig.3B), ao passo que, a nota com três pulsos possui frequência enfatizada entre 4,7 e 6,3 kHz, com duração média de  $63,0 \pm 0,002$  ms ( $n = 22$ ) e o intervalo entre os pulsos, de 11,79 ms (Tab.3 e Fig.3C). O intervalo entre as vocalizações foi bastante variável entre 1,74 a 16,75 s. Na análise sonográfica foi observado também que, em uma das gravações, notas de dois pulsos intercalam-se com notas de três pulsos, sendo a proporção entre elas 1:1. Porém, a grande maioria das séries de vocalizações foram constituídas somente por um dos tipos de canto.

### *Comportamento.*

Indivíduos de *B. pernix* são encontrados vocalizando ou, simplesmente, abrigados debaixo do folheto. É comum encontrar vários indivíduos caminhando sobre a serapilheira em dias ensolarados com a vegetação úmida, podendo o tempo de exposição variar de 30 segundos a 35 minutos.

Durante este período de maior exposição dos indivíduos, foi possível observar alguns comportamentos como de deslocamento, defesa, limpeza, vocalização e agonístico, os quais são descritos abaixo.

**Deslocamento:** Os indivíduos podem deslocar-se sobre a serapilheira: caminhando ou saltando. A caminhada do indivíduo pode ser realizada em três ritmos diferentes: 1) lenta, no qual o indivíduo move primeiro um dos membros anteriores, interrompe o deslocamento e posteriormente continua movendo um dos membros posteriores. Esta movimentação dos membros ocorre de forma alternada e em um ritmo muito lento, quase imperceptível. 2) mediana, quando os membros anteriores e

posteriores são movidos em sequência, realizando passos seguidos. Passos são definidos como cada movimento dos membros anteriores ou posteriores, de uma posição lateral ao corpo para uma posição à frente (membros anteriores) ou de uma posição atrás do corpo para uma posição lateral ao corpo. Os movimentos no sentido inverso, também são válidos como passos. 3) rápida, ocorre nas ocasiões quando a caminhada é realizada com velocidade nitidamente maior que a mediana.

A caminhada é o deslocamento mais frequente mas, o salto pode ser observado algumas vezes. Para saltar, o indivíduo flexiona os membros anteriores e posteriores, ficando com a região anterior mais elevada que a posterior. Após esta postura, há o estiramento rápido dos membros, projetando o corpo para frente. O salto muitas vezes não é finalizado com sucesso e o indivíduo cai com o ventre direcionado para cima. Este comportamento de saltar foi observado em algumas situações de fuga, ou quando estavam em uma superfície alta e se deslocavam para uma mais baixa.

Defesa: Os comportamentos de defesa observados foram o salto, tanatose e diminuição do volume corporal. O salto era utilizado quando um potencial predador tocava na vegetação próxima a um indivíduo que se encontrava caminhando exposto sobre a serapilheira, ou quando um invertebrado maior que ele (ex.: formiga, aranha, diplopoda) aproximava-se. Quando eu me deslocava pela floresta, fazendo sombra à um indivíduo parcialmente abrigado, este flexionava os membros junto ao corpo, diminuindo o volume corporal permanecendo imóvel, ou abrigava-se completamente sob o folheto. Durante a remoção da serapilheira ou até mesmo durante a manipulação de um indivíduo, *B. pernix* utilizava como mecanismo de defesa a tanatose. Esta espécie segue

a postura característica para os anuros, flexionando os membros anteriores e posteriores junto ao corpo e permanecendo imóveis, mesmo quando manipulados. Em duas ocasiões, encontrei indivíduos realizando tanatose sobre a serapilheira com o ventre voltado para cima e após alguns minutos os indivíduos viraram e deslocaram-se em direção a serapilheira.

**Limpeza:** Em vários dias observei indivíduos levantando a mão, passando-a acima do olho em direção a boca, realizando um movimento circular enquanto fechava o olho (Fig.4A); ou então, o indivíduo levantava o braço até a altura do saco vocal, passando-a lateralmente na região do saco vocal. Outro comportamento, o de esfregar os pés no corpo, também, foi observado, no qual o indivíduo passava o pé na região látero-ventral (Fig.4B). Quando este comportamento foi realizado com os dois pés, as pernas foram distendidas em direção à região posterior do corpo e os pés esfregados um no outro. Em algumas ocasiões observei partículas do solo em contato com o corpo na região em que o indivíduo esfregava os membros. Em uma observação, o animal esfregou freneticamente com as duas mãos a cabeça e os dois pés, um no outro, alternando os dois movimentos.

**Agonístico:** No dia 06 de novembro de 1996, foram observados dois indivíduos sobre a serapilheira em um encontro agonístico. Um dos indivíduos (*a*) estava ao lado de uma pedra distante cerca de 30 cm do outro indivíduo (*b*) (Fig.5A). Observei o indivíduo *b* levantar o braço esquerdo na altura do olho, encostando a mão na margem externa do olho com o III dedo e posteriormente, abaixando o braço (Fig.5B). O indivíduo *a* realizou o mesmo comportamento, com a diferença de não encostar a mão no olho

(Fig.5C). Quando este comportamento foi novamente executado por *b*, o indivíduo *a* deslocou-se para trás da pedra, afastando-se de *b* (Fig.5D). Ao mesmo tempo em que *a* se afastava, *b* caminhava na direção em que antes era ocupada por *a*, ocupando-a e permanecendo estático por 10 minutos (Fig.5E). Passado este tempo, o indivíduo *b* orientou-se em direção ao *a* (Fig.5F), deslocou-se e posicionou o seu corpo à frente de *a*, realizando novamente o comportamento de levantar e abaixar a mão na altura do olho. Nesta ocasião, o indivíduo *a* iniciou novamente o deslocamento, afastando-se da área (Fig.5G), abrigoando-se sob o folheto e *b* retomou a posição que *a* ocupara anteriormente.

Em outras ocasiões no ano de 1996 e 1997, foram observados indivíduos realizando o comportamento de levantar a mão na altura do olho e com posterior abaixamento, mas nestas observações não foi detectado outro indivíduo exposto sobre a serapilheira. Possivelmente, o outro indivíduo poderia estar abrigado sob o folheto, visível somente ao indivíduo sinalizador.

Em três ocasiões, nos meses de outubro e novembro, encontrei dois indivíduos caminhando juntos, um por cima do outro. O indivíduo que se encontrava por cima (indivíduo *b*), abraçava o outro (indivíduo *a*) na região axilar (Fig.6A), mantendo as pernas na serapilheira. Após alguns segundos, os indivíduos se separaram, vocalizaram e abrigaram-se na serapilheira. Porém, em uma das observações, o indivíduo que inicialmente encontrava-se por baixo (*a*) seguiu caminhando atrás do outro (*b*) (Fig.6B), até subir em seu dorso, segurando-o também pela região axilar (Fig.6C). Logo após, o indivíduo *b* vocalizou uma vez e o indivíduo *a* posicionou-se transversalmente ao corpo

de *b*, mantendo apenas as mãos apoiadas sobre o outro (Fig.6D). Depois, os dois novamente se separaram. Com o afastamento, *b* emitiu duas vocalizações (Fig.6E), seguido por uma do indivíduo *a* e novamente, mais uma de *b*. Após estas atividades os dois começaram a deslocar-se para direções opostas.

#### *Densidade populacional.*

Através do método de quadrantes, foram amostrados no ponto 1, que compreendeu como área de amostragem trilha e borda da serapilheira, três indivíduos por m<sup>2</sup>. No ponto 2, que compreendeu borda e interior da vegetação, quatro indivíduos por m<sup>2</sup> e no ponto 3, no interior da vegetação, foram amostrados oito indivíduos por m<sup>2</sup>. Considerando a floresta como ambiente homogêneo a estimativa da densidade populacional para *B. pernix* foi de cinco indivíduos por m<sup>2</sup>.

## DISCUSSÃO

#### *Atividade diária.*

De acordo com Duellman & Trueb (1986), as atividades sazonais e diárias dos anfíbios são correlacionadas com as condições ambientais, principalmente temperatura e umidade. Isto é verdade para a maioria das espécies da região sudeste do Brasil (Heyer *et al.*, 1990; Andrade & Cardoso, 1991; Pombal *et al.*, 1994; Feio *et al.*, 1998) e de forma semelhante, também se aplica a *B. pernix* que foi mais ativo nos meses mais quentes e úmidos do ano.

Para muitas espécies que habitam regiões montanhosas e que possuem tolerância termal estreita, a umidade e temperaturas requeridas para evitar a desidratação exercem grande influência na atividade sazonal de tais espécies (Duellman & Trueb, 1986). Durante o período de estudos no Morro Anhangava, o fator principal a influenciar a atividade da espécie foi a temperatura. De maneira semelhante, correlações positivas entre temperatura e ritmo de emissão de vocalizações já foram observados em diversos anuros (Martins, 1990).

Embora, a temperatura exerça forte influência, a umidade do solo parece ter sido um fator importante para a atividade diária da espécie, pois, mesmo em dias frios com umidade relativa do ar baixa mas, com umidade do solo alta, foram observados vários indivíduos ativos, tanto vocalizando como se deslocando sobre a serapilheira. Esta influência da umidade do solo na atividade dos anuros não é incomum, já tendo sido relatada como sendo de grande importância, particularmente, para os processos reprodutivos (Duellman & Trueb, 1986).

### *Vocalização.*

Segundo vários autores, as vocalizações em muitos anfíbios anuros desempenham importante papel no comportamento reprodutivo e territorial (Duellman & Trueb, 1986). Pombal (1992), sugere que o canto de anúncio de *B. ephippium* possui função primariamente territorial, embora não tenha sido avaliada a sua importância na atração das fêmeas. Para *B. pernix* as vocalizações emitidas pelos machos, assim como para *B. ephippium*, parece ter também função territorial, uma vez que nos encontros agonísticos

envolvendo combate físico e após a separação dos agressores, os machos sempre vocalizavam e o macho vencedor permanecia no local vocalizando sobre o folheto durante alguns minutos. No presente estudo, também não foi possível avaliar a vocalização com função de atrair as fêmeas, o que deve-se a dificuldade em observar os machos vocalizando sob o folheto, sendo raras as observações sobre a serapilheira, não sendo possível esclarecer totalmente o contexto comportamental da vocalização.

Análises acústicas têm auxiliado na validação das relações taxonômicas entre anfíbios anuros (Pombal *et al.*, 1995). Em geral, as propriedades espectrais das vocalizações são citadas como as características mais importantes no isolamento reprodutivo. Porém, características temporais das vocalizações de anúncio tem se mostrado essenciais para o reconhecimento da espécie em bufonídeos (Sullivan & Leek, 1987) e em hílideos (Schwartz, 1987). Considerando que *B. pernix* constitui uma espécie recentemente descrita e sua vocalização era desconhecida (Pombal *et al.*, 1998), assim como as vocalizações das demais espécies que compõe a família Brachycephalidae, com exceção de *B. ephippium*, a análise comparada das características da vocalização destas espécies constitui uma contribuição para corroborar a sistemática do grupo.

A postura de vocalização de *B. pernix* segue a postura característica adotada por *B. ephippium*. As vocalizações emitidas pelos machos de *B. pernix* (neste estudo) e de *B. ephippium* (Pombal *et al.*, 1994) apresentam altas frequências. Vocalizações de anúncio de anuros com altas frequências (5 - 9 kHz) podem estar relacionadas aos seus tamanhos diminutos e é, primariamente, resultado de um aparato laringeal muito pequeno (Estrada & Hedges, 1996). Apesar desta semelhança, quando são comparadas características

espectrais e temporais, entre estas duas espécies, são detectadas muitas diferenças (Tab.3).

A espécie em estudo possui um canto de duração curta, constituído por dois a três pulsos com frequência enfatizada na faixa de 4,4 e 6,7 kHz, ao passo que, *B. ephippium* apresenta um canto longo de baixa intensidade constituído por uma série de 5 a 15 pulsos com frequência enfatizada de 3,4 a 5,3 kHz geralmente, com frequência constante, apresentando algumas notas iniciais com frequência descendente (Pombal *et al.*, 1994).

Os valores temporais das vocalizações, também, conferem diferenças entre as espécies. *Brachycephalus pernix* possui notas com duração de 31 - 63 ms com intervalos de 5,77 - 11,79 ms, e *B. ephippium* possui notas com duração de 93 - 125 ms, com intervalos de 123 - 149 ms (Tab.3). Assim, quando analisamos as vocalizações de *B. pernix* através de sonogramas e as comparamos com os de *B. ephippium* (Pombal *et al.*, 1994), podemos observar que as vocalizações das duas espécies diferenciam-se não somente pelas características espectrais como também pelas temporais.

### *Comportamento.*

Pombal *et al.* (1998) sugerem para as espécies de *Osornophryne* (Ruiz-Carranza & Hernandez-Camacho, 1976), *Psyllophryne* (Izecksohn, 1971), *Euparkerella* (Izecksohn, 1988) e *Brachycephalus* (Pombal *et al.*, 1994), que utilizam a marcha como modo de locomoção, que esta forma de locomoção está associada à redução de dígitos e falanges. *Brachycephalus pernix* parece não ser diferente, pois apresenta a marcha como

o meio mais frequente de locomoção, o que é esperado dado à redução de seus membros, particularmente, quando é considerada a relação com sua massa corpórea. Além disso, a marcha pode estar associada ainda, a uma adaptação para conservação de energia, uma vez que o seu salto não é um meio eficaz de locomoção, pois muitas vezes ele não é terminado com sucesso. A economia de energia em relação a marcha é algo que já foi citado para as espécies de *Bufo* (Walton *et al.*, 1994).

Em um estudo sobre a performance de locomoção de anuros semi-aquáticos, terrestres e arbóreos, verificou-se que anuros terrestres que habitam o solo seco ou bem drenado e que tendem a ser total ou parcialmente fossoriais possuem uma baixa habilidade de saltar (Zug, 1978), além disto, Duellman & Trueb (1986) acrescentam este tipo de locomoção às características do hábito fossório. Isto parece ser também verdade para *B. pernix* tendo em vista que a espécie frequentemente caminha entre a serapilheira e o salto é pouco eficaz neste ambiente. Contudo, *B. pernix*, utiliza o salto como mecanismo de defesa, realizando pequenos saltos multidirecionais, ao perceber um potencial predador. Considerando que a predação pode ser dividida em cinco estágios: detecção, identificação, aproximação, subjugação e consumo (Endler, 1986), é esperado que a presa tente livrar-se de uma possível predação nos primeiros estágios. Fugir aos pulos parece ser uma tática defensiva primitiva, que está presente na maioria das espécies de anuros (Duellman & Trueb, 1986). Além de afastar-se do predador, pode interromper a trilha usada na procura de presas por predadores que orientam-se pela procura química (Duellman & Trueb, 1986). O sucesso de escapar de um potencial predador, antes de um possível encontro, depende da capacidade locomotora do organismo (Endler, 1986).

Então, se considerarmos que *B. pernix* apresenta baixa habilidade para saltar, é esperado que a espécie utilize de outras estratégias defensivas como a diminuição do volume corpóreo, tanatose e coloração aposemática.

Assim, é possível que mudanças na forma do corpo possam confundir ou desorientar o predador (Endler, 1986). *Brachycephalus pernix*, quando semi-abrigado na serapilheira, ao perceber um potencial predador, pode diminuir o seu volume corpóreo. Este comportamento possivelmente é direcionado à predadores visualmente orientados, os quais podem confundir *B. pernix* com folhas amareladas da serapilheira a longas distâncias.

A imobilidade, seja “fingir de morto” (comportamento denominado de tanatose) ou não, é amplamente distribuída nas mais diversas famílias de anuros (Duellman & Trueb, 1986). Ao removermos a serapilheira é comum encontrarmos os indivíduos descobertos em tanatose possivelmente, evitando de serem reconhecidos como presas. Isto pode ser explicado pela baixa habilidade de se deslocarem, seja em marcha ou em saltos, evitando o contato com o predador. Caso ainda sejam detectados, não se pode descartar ainda o mecanismo secundário do aposematismo. As vantagens dessa associação devem estar direcionadas aos predadores orientados visualmente, os quais podem ser ludibriados pela imobilidade da presa (Martins, 1990) e em caso de detecção, alertados da toxicidade pela coloração aposemática (Duellman & Trueb, 1986).

O comportamento de limpeza que consiste em esfregar o olho com os membros anteriores é muito semelhante ao de comunicação visual, porém a movimentação do braço é muito distinta entre os dois comportamentos. No comportamento de limpeza o

indivíduo sempre faz a oclusão do olho, o que não acontece na comunicação visual. Além disso, o comportamento de limpeza, que é realizado esfregando-se os membros anteriores e/ou posteriores, é repetido diversas vezes seguidas ininterruptamente. Portanto, é provável que este movimento corresponda a uma atividade de limpeza. Esta hipótese é reforçada pelo fato de que, na maior parte das ocasiões em que este comportamento foi realizado, eram visíveis pequenas partículas em contato com o corpo do animal, o que não ocorria nos movimentos interpretados como comunicação visual.

Pombal *et al.* (1994), sugerem que o comportamento de limpeza em *B. ephippium* deu origem a sinalização visual, devido à semelhança entre os comportamentos. A sinalização visual em *B. ephippium* consiste em movimentos de levantar e abaixar a mão na altura do olho, semelhante ao que foi observado para *B. pernix*, com poucas variações. Estes comportamentos possivelmente estão associados a alternância das cores contrastantes da mão laranja e do olho preto, possibilitando assim a comunicação visual.

A comunicação visual é relatada para poucas famílias de anuros e consiste na exibição de cores, posturas e/ou movimentos (Dole, 1974; Wells, 1980a, b; Crump, 1988; Cocroft *et al.*, 1990; Heyer, 1990; Pombal *et al.*, 1994; Haddad & Giaretta, no prelo). Possivelmente, algumas espécies desenvolveram este comportamento como resposta ao ruído de fundo dos ambientes, como riachos encachoeirados (Heyer *et al.*, 1990) que interferem na propagação da vocalização. *Brachycephalus ephippium* vive em um ambiente relativamente quieto, no chão da floresta pobre em corpos de água (Haddad & Giaretta, no prelo), ao contrário do que foi considerado por Lindquist &

Hetherington (1996), os quais consideraram como sendo de ambientes com riachos. Apesar do ambiente de *B. ephippium* ser relativamente quieto, os valores em decibéis (dB) dos ruídos de fundo excedem a vocalização de anúncio de baixa intensidade da espécie (Pombal *et al.*, 1994). Portanto, a vocalização de baixa intensidade associada a atividade diurna e a coloração aposemática apresentada por esta espécie podem estar relacionadas à comunicação visual (Pombal *et al.*, 1994; Haddad & Giaretta, no prelo). Para *B. pernix*, a atividade diurna e a coloração aposemática parecem exercer maior importância no desenvolvimento da comunicação visual, devido a vocalização desta espécie ser relativamente mais alta do que a de *B. ephippium*. Porém, neste trabalho, não foi mensurado o valor em decibéis da vocalização e dos ruídos de fundo.

O contexto do comportamento das comunicações visuais ainda não está claro para a maioria das espécies que apresentam este comportamento. Apenas para *Stauroids* e *Hylodes asper* (Lindquist & Hetherington, 1996; Haddad & Giaretta, no prelo; respectivamente) este comportamento, foi observado durante a corte e agressões entre machos. Para *B. ephippium* (Pombal *et al.*, 1994), *Litoria* e *Atelopus zeteki* foi observado somente durante interações agressivas entre machos (Lindquist & Hetherington, 1996), portanto, para todas as espécies citadas, a comunicação visual está associada a encontros agonísticos.

Pombal (1992) observou para *B. ephippium*, encontros agonísticos escalonados, nos quais a vocalização antecedia aos combates físicos. Apesar de não observar um quadro completo da evolução dos encontros agonísticos, através de todas as observações feitas, é possível inferir que *B. pernix* apresenta comportamento agonístico

escalonado semelhante ao descrito para *B. ephippium* (Pombal *et al.*, 1994), sendo possível sugerir uma sequência dos comportamentos, como segue abaixo.

O macho intruso invade o território do residente, o residente ao perceber o intruso pode sinalizar através de comunicação visual e/ou vocalizar. O macho intruso pode retirar-se ou permanecer no território do residente. Se permanecer, os dois machos brigam. Então, o indivíduo intruso pode livrar-se e fugir sendo perseguido ou não pelo residente. Geralmente, no final da disputa, vocalizações são emitidas pelo macho vencedor, o qual permanece no território enquanto o outro se desloca para outro local.

Tanto a comunicação visual quanto os combates físicos entre os machos são descritos como correlacionados à defesa de território (Haddad, 1987; Wells, 1980a; Martins, 1990; Pombal, 1992). Wells (1977), propôs três categorias de função para o comportamento territorial: 1) defesa de recursos necessários à sobrevivência do indivíduo, 2) defesa de sítios de oviposição e 3) defesa de áreas de corte. Para *B. ephippium* foi definido que a defesa dos territórios estão em função de sítios de oviposição e de corte (Pombal *et al.*, 1994) devido as ações enérgicas do macho residente junto aos invasores, o que pode ser entendido da mesma forma para *B. pernix*, e sendo que as fêmeas não apresentam comportamentos agonísticos fortes.

Os meses de maior atividade de *B. pernix* foram de outubro a janeiro, sendo verificado através das médias mensais do número de indivíduos visualizados e ritmo diário de vocalização, além de serem observados neste período a maioria dos comportamentos, principalmente os encontros agonísticos. Já nos meses de fevereiro a agosto foi registrada a menor atividade, ocorrendo dias sem registros de atividades da

espécie, tanto por visualização quanto por vocalização. Portanto, possivelmente a estação reprodutiva ocorra nos meses de maior atividade da espécie, nos quais foram observados maior atividade de vocalização e comportamentos agonísticos, os quais estão fortemente relacionados à atividade reprodutiva em anuros (Searcy & Andersson, 1986; Crump, 1988). Assim, apesar de não ter sido registrado qualquer amplexo ou oviposição, este período de maior atividade deve estar relacionado também a estação reprodutiva para *B. pernix*.

#### *Densidade populacional.*

Scott (1976), Toft (1980) e Fauth *et al.* (1989), sugerem que a composição e a abundância das espécies de anuros que habitam a serapilheira sofrem influências das condições ambientais, tais como a profundidade e a umidade da serapilheira.

Na estimativa da densidade populacional, podemos observar um gradiente na ocupação dos ambientes presentes na floresta ombrófila densa alto-montana no Morro Anhangava, onde as áreas da serapilheira mais densa (interior da vegetação) apresentam o maior número de indivíduos amostrados, ao passo que, as áreas sem vegetação (trilha) ou com pouca vegetação (borda) apresentam o menor número de indivíduos. A associação de quanto maior a profundidade da serapilheira maior a abundância dos animais são consistentes com outros estudos, os quais sugerem que o tipo e a profundidade da serapilheira podem influenciar a umidade do solo e a disponibilidade de artrópodos (Fauth *et al.*, 1989; Heinen, 1992). Para *B. pernix*, além da comprovação através da densidade, isto pode ser suportado pela grande atividade de indivíduos de *B.*

*pernix* mesmo em dias em que a temperatura e a umidade relativa do ar foram baixas, mas a umidade do solo foi alta e a temperatura do solo foi próximo a média anual, o que pode indicar que a serapilheira constitui um microhabitat para *B. pernix*.

Vários estudos tem discutido a respeito dos distúrbios causados pelos homens afetando as espécies de anuros que vivem na serapilheira, alertando ao fato de extinções locais e ao declínio das populações de anfíbios (Lieberman, 1986; Marca & Reinthaler, 1991; Heinen, 1992). Embora, não se tenha claro as causas para tais acontecimentos, acredita-se que a degradação ambiental pela ação do homem seja um dos fatores, como também, as mudanças ambientais (ex.: redução na cobertura da floresta) e mudanças climáticas (ex.: radiação, importante fator no declínio das populações em altitudes acima de 1.000 m) (Marca & Reinthaler, 1991). Visto que o Morro Anhangava tem sofrido, ao longo dos dez últimos anos, destruição da floresta ombrófila densa e da vegetação rupestre por parte dos visitantes, assim como tem sofrido forte impacto por parte das pedreiras instaladas na sua base, é necessário alertar que, apesar de *B. pernix* apresentar uma estimativa de densidade populacional com valores relativamente altos, se considerarmos que sua densidade é de 5 indivíduos por m<sup>2</sup> ao longo de todos os 134 ha da floresta alto-montana, esta espécie, possivelmente é dependente deste tipo de formação vegetacional e a degradação ambiental desta formação poderá acarretar o declínio populacional ou até mesmo, a extinção local desta espécie considerada até o momento como sendo endêmica do Estado do Paraná.

*Agradecimentos.* Agradeço a Emygdio L. A. Monteiro Filho pela orientação e leitura do manuscrito. À José P. Pombal Jr. e Nilton Cáceres, também, pela leitura do manuscrito. À Luiz Fernando Ribeiro pelo mapa e à Ana L. da Costa Prudente pela confecção da figura 5 e pelo auxílio nas demais figuras. À Juliana Quadros e Walter A. Boeger pelo abstract. Agradeço à Aduino Silva, Adolf K. Krueger, Ana P. Mendes, Ana Tereza Guimarães, Andreia C. Bagatin, André Bagatin, Carla Queijada, Fabiano dos S. Neto, Flávio Poppazoglo, João da Costa, José D. Andrade Filho, Luiz F. Ribeiro, Luis Mestre, Marcelo Bordignon, Marcus V. Domingues, Marina Amaral, Maurício O. Moura, Mauro Pichorim, Patrícia Calil, Paula Nakayama, Paula Romão, Richard Z. da Cruz e Silvia R. Z. da Cruz pelo auxílio ao trabalho no campo. Este estudo sendo parte da dissertação de mestrado no curso de Pós-Graduação em Zoologia, recebeu apoio financeiro da CAPES e CNPq.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN, S. E. & SIMMONS, A. M. 1994. Temporal features mediating call recognition in the green treefrog, *Hyla cinerea*: amplitude modulation. *Anim. Behav.* 47:1073-1086.
- ANDRADE, G. V. & CARDOSO, A. J. 1991. Descrição de larvas e biologia de quatro espécies de *Hyla* (Amphibia, Anura). *Rev. Brasil. Biol.* 51:391-402.
- BANKS, B. & BEEBEE, T. J. C. 1986. Climatic effects on calling and spawning of the natterjack toad *Bufo calamita*: discriminant analyses and applications for conservation monitoring. *Biol. Conserv.* 36:339-350.

- BASTOS, R. P. & HADDAD, C. F. B. 1995. Vocalizações e interações acústicas de *Hyla elegans* (Anura, Hylidae) durante a atividade reprodutiva. *Naturalia* 20:165-176.
- COCROFT, R. B.; McDIARMID, R. W.; JASLOW, A. P.; RUIZ-CARRANZA, P. M. 1990. Vocalizations of eight species of *Atelopus* (Anura: Bufonidae) with comments on communication in the genus. *Copeia* 1990:631-643.
- CREE, A. 1989. Relationship between environmental conditions and nocturnal activity of the terrestrial frog, *Leiopelma archeyi*. *J. Herpetol.* 23:61-68.
- CRUMP, M. L. 1988. Aggression in harlequin frogs: male-male competition and a possible conflict of interest between the sexes. *Anim. Behav.* 36:1064-1077.
- DOLE, J. W. 1974. Courtship behavior in *Colostethus collaris* (Dendrobatidae). *Copeia* 1974:988-990.
- DUELLEMAN, W. E. & TRUEB, L. 1986. *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill, New York.
- ENDLER, J. A. 1986. Defense Against Predators. *In*: M. E. Feder & G. V. Lauder (ed.), *Predator-Prey Relationships. Perspectives and Approaches from the Study of Lower Vertebrates*, pp.109-134. The University of Chicago Press, Chicago and London.
- ESTRADA, A. R. & HEDGES, S. B. 1996. At the lower size limit in tetrapods: a new diminutive frog from Cuba (Leptodactylidae: *Eleutherodactylus*). *Copeia* 1996:852-859.

- FAUTH, J. E.; CROTHER, B. I. & SLOWINSKI, J. B. 1989. Elevation patterns of species richness, evenness, and abundance of the Costa Rican leaf-litter Herpetofauna. *Biotropica* 21:178-185.
- FEIO, N. R.; BRAGA, U. M. L.; WIEDERHECKER, H. & SANTOS, P. S. 1998. Anfíbios do Parque Estadual do Rio Doce (Minas Gerais). Universidade Federal de Viçosa e Instituto Estadual de Florestas, Minas Gerais.
- FROST, D. R. (ed.) 1985. Amphibian Species of the World. A Taxonomic and Geographical Reference. Allen Press Inc., and The Association of Systematics Collections, Lawrence, Kansas.
- FUKUYAMA, K. & KUSANO, T. 1992. Factors affecting breeding activity in a stream-breeding frog, *Buergeria buergeri*. *J. Herpetol.* 26:88-91.
- GALATTI, U. 1992. Population biology of the frog *Leptodactylus pentadactylus* in a Central Amazonian Rainforest. *J. Herpetol.* 26:23-31.
- GIARETTA, A. A.; BOKERMANN, W. C. A. & HADDAD, C. F. B. 1993. A review of the genus *Megaelosia* (Anura, Leptodactylidae) with a description of a new species. *J. Herpetol.* 27:276-285.
- \_\_\_\_\_; SAWAYA, R. J.; MACHADO, G.; ARAÚJO, M. S.; FACURE, K. G.; MEDEIROS, H. F. & NUNES, R. 1997. Diversity and abundance of litter frogs at altitudinal sites at Serra do Japi, southeastern Brazil. *Revta. bras. Zool.* 14:341-346.
- HADDAD, C. F. B. 1987. Comportamento reprodutivo e comunicação sonora de *Hyla minuta* PETERS (Amphibia, Anura, Hylidae). Dissertação de Mestrado, não

publicada, apresentada no Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

\_\_\_\_\_ & SAZIMA, I. 1992. Anfíbios anuros da Serra do Japi. *In*: L. P. C. Morellato (ed.), História Natural da Serra do Japi, Sudeste do Brasil, pp. 188-211 Editora da Unicamp/FAPESP, Campinas.

\_\_\_\_\_. 1995. Comunicação em anuros. *An. de Etologia*, (Pirassununga-SP, Brasil) 13:116-132.

\_\_\_\_\_ & GIARETTA, A. A. (no prelo). Visual and acoustic communication in the brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura, Leptodactylidae). *Herpetologica*.

HEINEN, J. T. 1992. Comparisons of the leaf-litter herpetofauna in abandoned cacao plantations and primary rain forest in Costa Rica: some implications for faunal restoration. *Biotropica* 24:431-439.

HEYER, W. R.; RAND, A. S.; CRUZ, C. A. G.; PEIXOTO, O. L. & NELSON, C. E. 1990. Frogs of Boraceia. *Arq. Zool. (S. Paulo)* 31:231-410.

IBGE 1992. Manual técnico da vegetação brasileira. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Rio de Janeiro.

IZECKSOHN, E. 1971. Novo gênero e nova espécie de Brachycephalidae do Estado do Rio de Janeiro, Brasil (Amphibia, Anura). *Bol. Mus. Nac. (Zool.)* 280:1-12.

\_\_\_\_\_. 1988. Algumas considerações sobre o gênero *Euparkerella*, com a descrição de três novas espécies (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Rev. Brasil. Biol.* 48:59-74.

KREBS, C. J. 1989. *Ecological Methodology*. Harper & Row, Publishers, New York.

- LEHNER, P. N. 1979. Handbook of Ethological Methods. Garland STPM Press, New York.
- LIEBERMAN, S. S. 1986. Ecology of the leaf litter herpetofauna of a Neotropical Rain Forest: La Selva, Costa Rica. Acta Zool. Mex. (new series) 15:1-71.
- LINDQUIST, E. D. & HETHERINGTON, T. E. 1996. Field studies on visual and acoustic signaling in the “earless” panamanian golden frog, *Atelopus zeteki*. J. Herpetol. 30:347-354.
- LIZANA, M.; MÁRQUEZ, R. & MARTÍN-SÁNCHEZ, R. 1994. Reproductive biology of *Pelobates cultripes* (Anura: Pelobatidae) in central Spain. J. Herpetol. 28:19-27.
- MAACK, R. 1981. Geografia Física do Estado do Paraná. J. Olympio, Rio de Janeiro.
- MARCA, E. La & REINTHALER, H. P. 1991. Population changes in *Atelopus* species of the Cordillera de Mérida, Venezuela. Herp. Review 22:125-128.
- MARTINS, M. 1990. História natural do sapo ferreiro (*Hyla faber*, WIED) na região de Campinas, Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, não publicada, apresentada no Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- POMBAL, J. P. Jr. 1992. História natural de *Brachycephalus ephippium* (Anura, Brachycephalidae), na região de Campinas, Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, não publicada, apresentada no Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

- \_\_\_\_\_; SAZIMA, I. & HADDAD, C. F. B. 1994. Breeding behavior of the pumpkin toadlet, *Brachycephalus ephippium* (Brachycephalidae). J. Herpetol. 28:516-519.
- \_\_\_\_\_; BASTOS, R. P. & HADDAD, C. F. B. 1995. Vocalizações de algumas espécies do gênero *Scinax* (Anura, Hylidae) do sudeste do Brasil e comentários taxonômicos. Naturalia 20:213-225.
- \_\_\_\_\_; WISTUBA, E. M. & BORSCHHEIN, M. R. 1998. A new species of Brachycephalid (Anura) from the Atlantic Rain Forest of Brazil. J. Herpetol. 32:70-74.
- \_\_\_\_\_. (no prelo). Oviposição e desenvolvimento de *Brachycephalus ephippium* (Anura, Brachycephalidae). Revta. bras. Zool.
- PRÖHL, H. 1997. Pátron reproductivo en *Dendrobates pumilio* (Anura: Dendrobatidae). Rev. Biol. Trop. 45:1669-1676.
- RITKE, M. E.; BABB, J. C. & RITKE, M. K. 1992. Temporal patterns of reproductive activity in the gray treefrog (*Hyla chrysoscelis*). J. Herpetol. 26:107-111.
- RODERJAN, C. V. & STRUMINSKI, E. 1992. Caracterização e proposta de manejo da serra da Baitaca, Quatro Barras, PR. FUFEP/Fundação “O Boticário de Proteção à Natureza”, Curitiba.
- \_\_\_\_\_. 1994. O gradiente da floresta ombrófila densa no Morro Anhangava, Quatro Barras, PR Aspectos climáticos, pedológicos e fitossociológicos. Dissertação de Doutorado, não publicada, apresentada no Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

- RUIZ-CARRANZA, P. M. & HERNANDEZ-CAMACHO, J. I. 1976. *Osornophryne*, genero nuevo de anfibios bufonidos de Colombia y Ecuador. *Caldasia (Zool.)* 11:93-148.
- SCHWARTZ, J. J. & WELLS, K. D. 1985. Intra-and- interspecific vocal behavior of the neotropical treefrog *Hyla microcephala*. *Copeia* 1985:27-38.
- \_\_\_\_\_. 1987. The importance of spectral and temporal properties in species and call recognition in a neotropical treefrog with a complex vocal repertoire. *Anim. Behav.* 35:340-347.
- SCOTT, N. J. JR. 1976. The abundance and diversity of the herpetofaunas of tropical forest litter. *Biotropica* 8:41-58.
- SEARCY, W. A. & ANDERSSON, M. 1986. Sexual selection and the evolution of song. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17:507-533.
- SINSCH, U. 1988. Temporal spacing of breeding activity in the natterjack toad, *Bufo calamita*. *Oecologia* 76:399-407.
- \_\_\_\_\_ & JOERMANN, G. 1989. Vocalization and mating behavior of the marsupial frog, *Gastrotheca marsupiata* (Dumeril and Bibron, 1841) (Amphibia: Hylidae). *Copeia* 1989:755-760.
- SULLIVAN, B. K. 1987. Sexual selection in woodhouse's toad (*Bufo woodhousei*). III. Seasonal variation in male mating success. *Anim. Behav.* 35:912-919.

- \_\_\_\_\_ & LEEK, M. R. 1987. Acoustic communication in woodhouse's toad (*Bufo woodhousei*). II. Response of females to variation in spectral and temporal components of advertisement calls. *Behaviour* 103:16-26.
- TOFT, C.A. 1980. Seasonal variation in populations of panamanian litter frogs and their prey: a comparison of wetter and drier sites. *Oecologia (Berl.)* 47:34-38.
- WALTON, B. M.; PETERSON, C. C. & BENNETT, A. F. 1994. Is walking costly for anurans? The energetic cost of walking in the northern toad *Bufo boreas halophilus*. *J. exp. Biol.* 197:165-178.
- WELLS, K. D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Anim. Behav.* 25:666-693.
- \_\_\_\_\_. 1980a. Behavioral ecology and social organization of a dendrobatid frog (*Colostethus inguinalis*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 6:199-209.
- \_\_\_\_\_. 1980b. Social behavior and communication of a dendrobatid frog (*Colostethus trinitatis*). *Herpetologica* 36:189-199.
- ZAR, J. H. 1996. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- ZUG, G. R. 1978. Anuran locomotion - Structure and function, 2: Jumping performance of semiaquatic, terrestrial, and arboreal frogs. *Smithson. Contrib. Zool.* 278:1-31.

Tab.1 - Amplitudes e médias anuais de temperatura e umidade relativa do ar e do solo no ano de 1997, mensuradas no interior da floresta ombrófila densa alto-montana, no Morro Anhangava, Município de Quatro Barras, PR.

	<b>Temperatura do ar (°C)</b>	<b>Temperatura do solo (°C)</b>	<b>Umidade relativa do ar (%)</b>	<b>Umidade relativa do solo (%)</b>
<b>Amplitude</b>	12,5 - 20	11,8 - 16,4	68,2 - 96	0 - 41
<b>Média Anual</b>	16,4	13,9	85,9	22,7

Tab.2 - Resultados obtidos através da Correlação de Spearman entre os valores das médias mensais dos dados climáticos (temperatura e umidade relativa do ar e do solo) e a atividade diária (número de indivíduos visualizados e ritmo diário de vocalização) de *B. pernix* na floresta ombrófila densa alto-montana do Morro Anhangava, Município de Quatro Barras, PR. \* Valores significativos ao nível de 0,05.

<b>PARES DE VARIÁVEIS</b>	<b>R</b>	<b>p</b>
<b>Temperatura do ar X N<sup>o</sup> indivíduos visualizados</b>	0,6736	0,0163*
<b>Temperatura do ar X Ritmo diário de vocalização</b>	0,6608	0,0193*
<b>Temperatura do solo X N<sup>o</sup> indivíduos visualizados</b>	0,2315	0,4689
<b>Temperatura do solo X Ritmo diário de vocalização</b>	0,2196	0,4926
<b>Umidade relativa do ar X N<sup>o</sup> indivíduos visualizados</b>	0,3496	0,2652
<b>Umidade relativa do ar X Ritmo diário de vocalização</b>	0,3817	0,2270
<b>Umidade relativa do solo X N<sup>o</sup> indivíduos visualizados</b>	0,3796	0,2235
<b>Umidade relativa do solo X Ritmo diário de vocalização</b>	0,3591	0,2515
<b>N<sup>o</sup> indivíduos visualizados X Ritmo diário de vocalização</b>	0,9387	0,000006*

Tab.3 - Diferenças apresentadas nas características espectrais e temporais entre os sonogramas das vocalizações de *B. pernix* e *B. ephippium*. \*Dados retirados de Pombal *et al.*, 1994.

	<i>B. pernix</i>		<i>B. ephippium</i> *
	2 pulsos	3 pulsos	
Número de pulsos por nota	2	3	5 - 15
Intervalo entre os pulsos (ms)	5,77	11,79	123 - 149
Duração das notas (ms)	31	63	93 - 125
Frequência enfatizada (kHz)	4,4 - 6,7	4,7 - 6,3	3,4 - 5,3

## LEGENDAS DAS FIGURAS

**Figura 1:** Localização da área de estudo, Morro Anhangava, Município de Quatro Barras, Estado do Paraná, sul do Brasil.

**Figura 2:** Médias mensais dos dados climáticos (A) e da atividade diária de *Brachycephalus pernix* (B) registrados na floresta ombrófila densa alto-montana, no Morro Anhangava, Município de Quatro Barras, PR. Legenda: T.A., temperatura do ar; T.S., temperatura do solo; U.A., umidade relativa do ar; U.S., umidade relativa do solo; N.I.V., número de indivíduos visualizados; R.D.V., ritmo diário de vocalização.

**Figura 3:** Sonogramas da vocalização de *B. pernix* com amplo espectro de energia (A). Detalhes das notas formadas por dois pulsos (B) e por três pulsos (C). Data: 19/09/1996; Temperatura do ar: 18<sup>o</sup> C.

**Figura 4:** Comportamento de limpeza de *B. pernix*. Movimento realizado com a mão (A) e com o pé (B).

**Figura 5:** Comportamento agonístico (comunicação visual) de *B. pernix*. Os dois indivíduos se encontram um frente ao outro sobre a serapilheira (A); o indivíduo *b* levanta o braço na altura dos olhos, tocando a margem externa do olho e abaixa o braço (B); indivíduo *a* realiza o mesmo movimento mas, sem tocar no olho (C); após *b* novamente realizar o movimento de levantar e abaixar o braço, *a* se desloca e *b* caminha na sua direção (D); *b* ocupa o lugar de *a* (E); *b* detecta *a* ao seu lado, direciona-se a ele e realiza o movimento de levantar e abaixar a mão (F); *a* então, desloca-se abrigando-se no folhiço, enquanto *b* novamente ocupa o lugar de *a* (G).

**Figura 6:** Comportamento agonístico (combate físico) de *B. pernix*. Indivíduo *b* abraçando indivíduo *a* pela região axilar, mantendo as pernas sobre a serapilheira (A); indivíduo *b* sai de cima de *a* e é perseguido por este (B); indivíduo *a* abraça *b* (C); após, *b* emitir uma vocalização, *a* gira o corpo lateralmente, ficando apenas com as mãos apoiadas sobre *b* (D); os dois indivíduos se separam e emitem vocalizações (E).

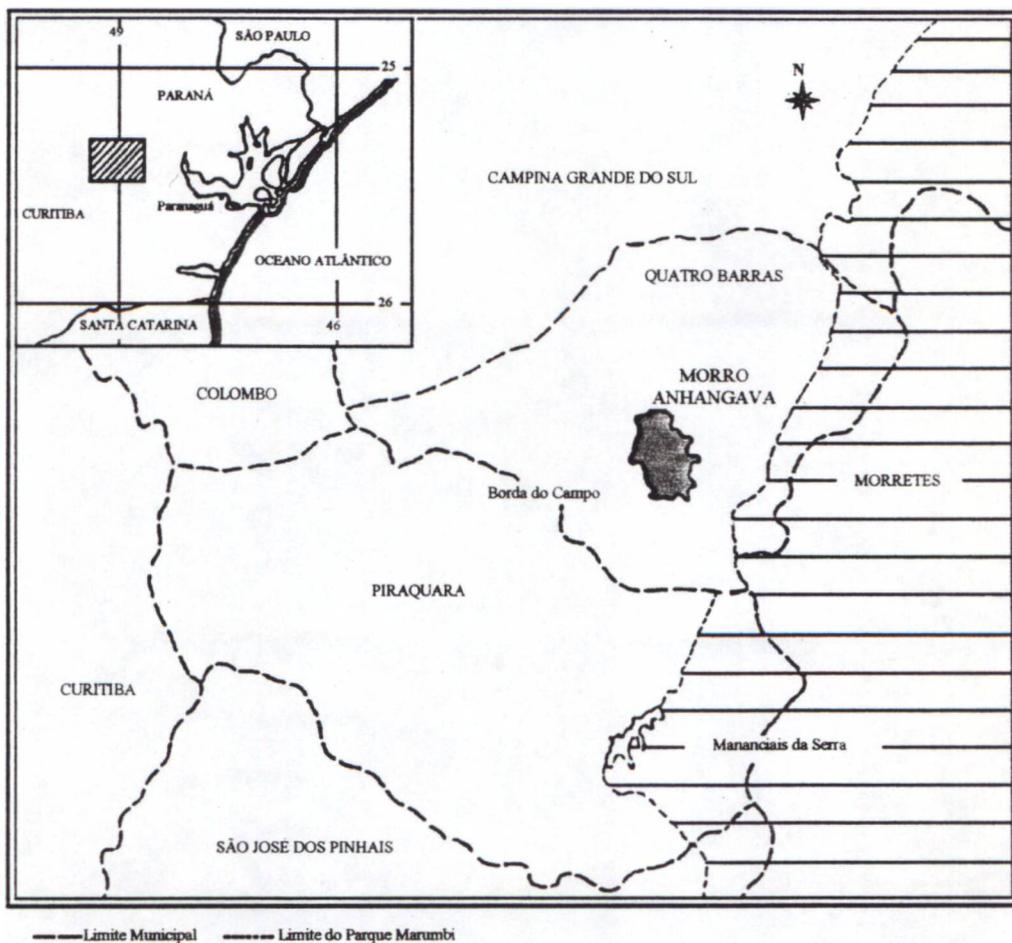


Fig. 1

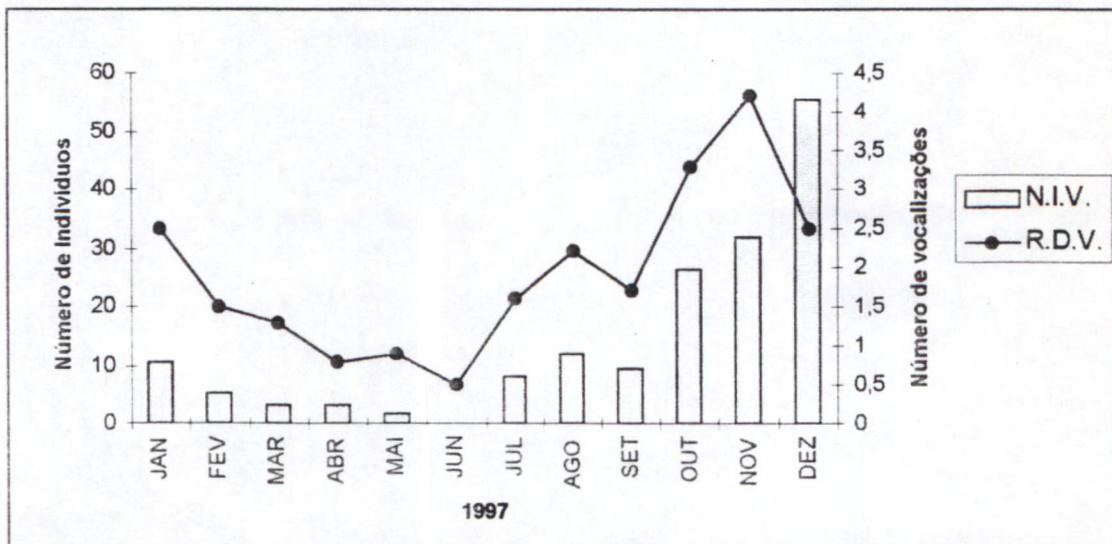
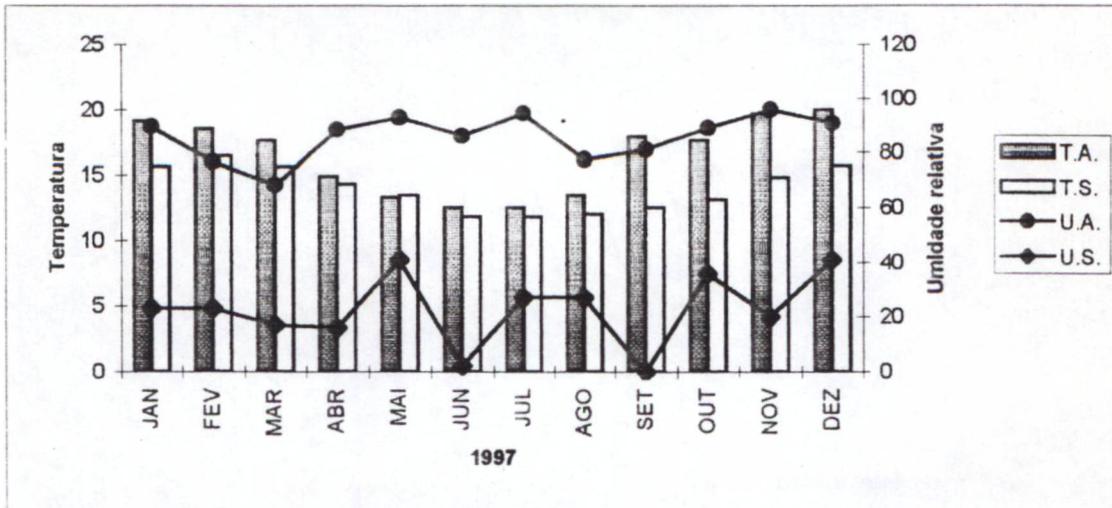
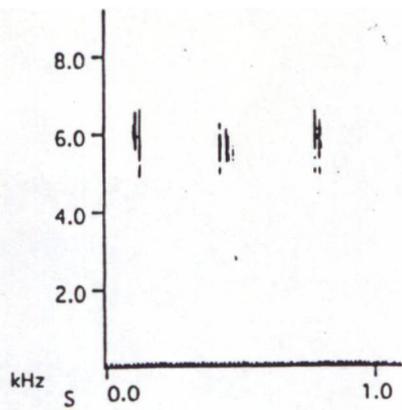
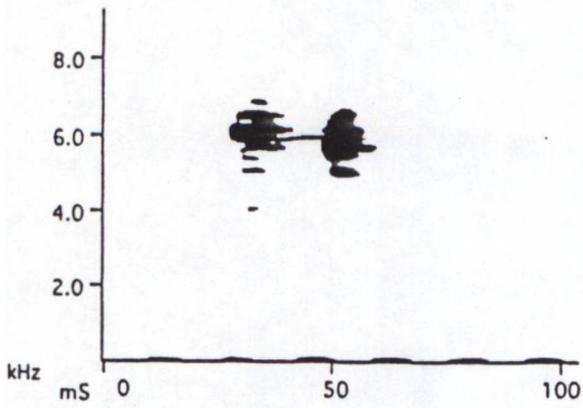


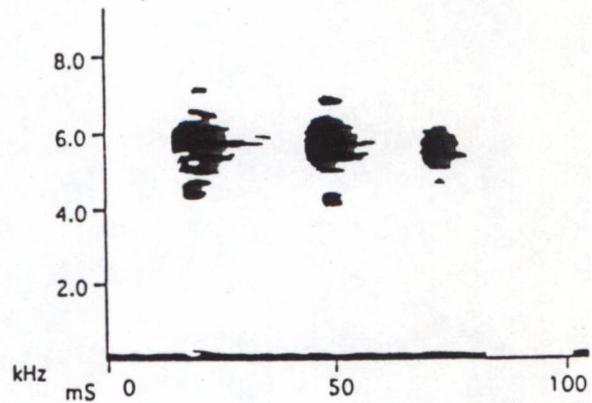
Fig. 2



**A**

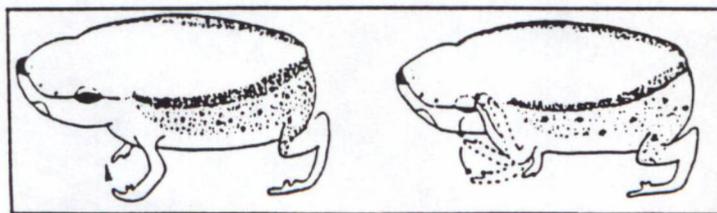


**B**

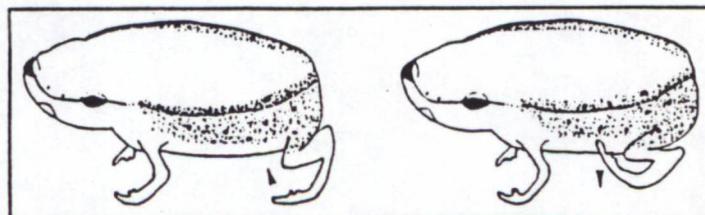


**C**

**Fig.3**



**A**



**B**

**Fig.4**

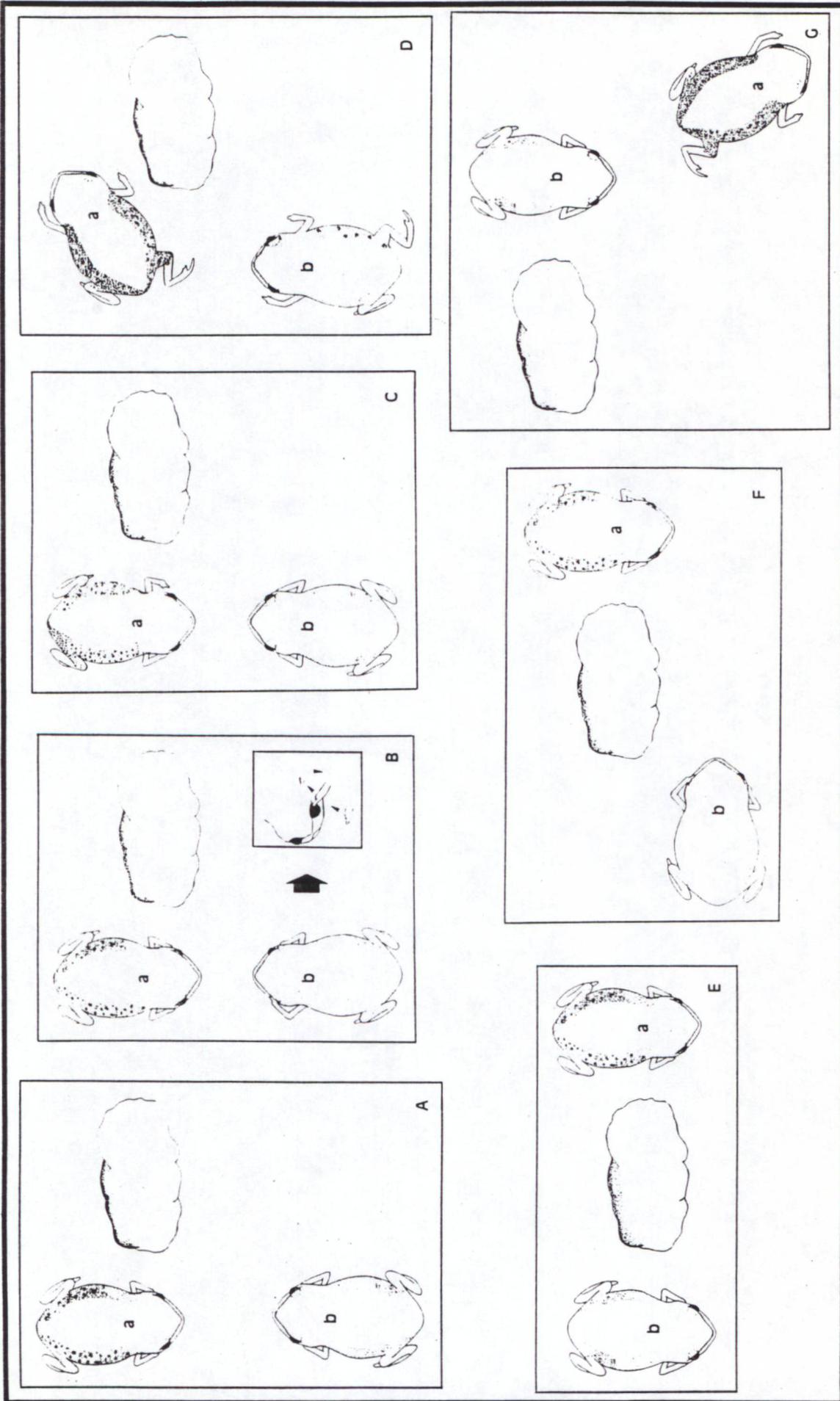


Fig. 5

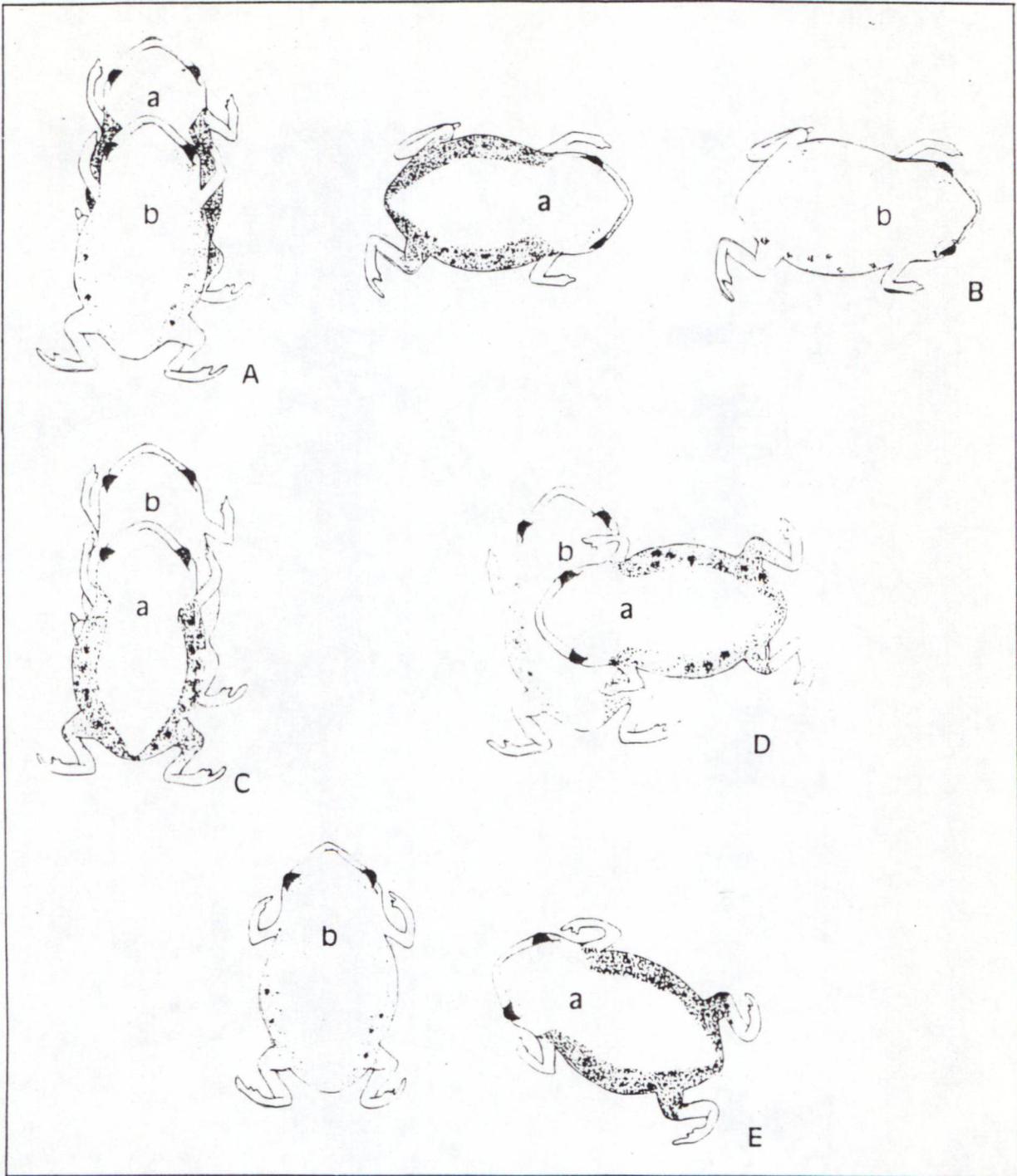


Fig.6

**CAPÍTULO II: Hábito e Comportamento Alimentar de**  
***Brachycephalus pernix* (Anura: Brachycephalidae).**

**(Manuscrito a ser submetido a revista Journal of Herpetology)**

## ***ABSTRACT***

Gastrointestinal contents were collected from 10 individuals of the recently named *Brachycephalus pernix*, in Anhangava Mountain, Quatro Barras Town, Paraná State and had its gastrointestinal contents analysed. Litter samples were collected in both seasons and the invertebrate fauna found in the litter was compared to the gastrointestinal contents analysed. Niche breadth analysis showed that the niche breadth to *B. pernix* is small, demonstrating selectivity in diet in the spring and in the winter. The main items in the diet, in both seasons, are ticks and parasitic hymenopterans. The frequency of occurrence of ticks in the litter did not vary seasonally. In the winter, spiders were also important items. A description of the feeding behaviour is also presented in this study, suggesting that *B. pernix* is an active forager.

**KEYWORDS:** *Brachycephalus*, Paraná, feeding behaviour, niche breadth, selectivity, foraging activity.

## HÁBITO E COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE

### *Brachycephalus pernix* (ANURA: BRACHYCEPHALIDAE).

*RESUMO* - Foi analisado o conteúdo gastro-intestinal de 10 indivíduos de *Brachycephalus pernix* coletados na primavera de 1996 e no inverno de 1997. Amostras de serapilheira foram coletadas nas duas estações e a fauna de invertebrados encontrada foi comparada com o conteúdo gastro-intestinal dos espécimes. Através da análise do tamanho de nicho de Levin foi verificado que o tamanho de nicho para a espécie é pequeno indicando seletividade dos itens alimentares utilizados nas duas estações amostradas. Os itens mais explorados foram ácaros e himenópteros da série parasítica, em ambas as estações, e aranhas, durante o inverno. As frequências dos ácaros na primavera e no inverno indicam não haver variação sazonal do principal item da dieta. A descrição do comportamento alimentar também é apresentada, sugerindo que a espécie é forrageador ativo.

Estudos sobre hábitos alimentares de anuros abordando seleção de presa e estratégias de forrageamento são escassos e pouco detalhados (Duellman & Trueb, 1986), principalmente para espécies tropicais que habitam a serapilheira (Vitt & Caldwell, 1994).

A maioria das espécies de anfíbios são consideradas oportunistas no hábito alimentar (Johnson & Christiansen, 1976; Matsumoto, *et al.*, 1984; Solano, 1986; Evans & Lampo, 1996). Suas dietas são limitadas, basicamente, pelo tamanho apropriado da presa (Hodar, *et al.*, 1990; Pombal, 1992; Cruz, 1993; Lima & Moreira, 1993) e, geralmente, são compostas predominantemente por artrópodes seja, o anfíbio de habitat terrestre (Labanick, 1976; Duellman & Trueb, 1986; Barrentine, 1991; Giaretta, *et al.*, 1998) ou de habitat aquático (Bruyn, *et al.*, 1996).

Anfíbios e lagartos utilizam tipicamente dois modos de forrageio: a) espera ou espreita (“sit and wait”), ou b) ativo. A definição do modo de forrageio inclui características comportamentais, fisiológicas e morfológicas tanto do predador quanto da presa (Simon & Toft, 1991). Forrageadores ativos tendem a ser portadores de defesas químicas, consumir em maior proporção presas menores, sedentárias, que vivem em agregações e sendo muitas vezes quitinosas (Huey & Pianka, 1981; Lima & Moreira, 1993). Em contraste, as presas consumidas por forrageadores de espreita são, na sua maioria, grandes em relação ao tamanho do corpo do predador, ativas e solitárias (Huey & Pianka, 1981; Lima & Moreira, 1993). Toft (1981) estudando o hábito alimentar de anuros da serapilheira no Panamá, sugeriu que as espécies por ela estudadas formam um contínuo de espécies que se especializaram em formigas e ácaros, espécies

completamente generalistas e espécies que evitam formigas e ácaros. No entanto, apesar dos ácaros serem entre os artrópodos do solo mais comuns em muitas localidades, são raramente registrados nas dietas de anuros ou lagartos (Simon & Toft, 1991).

Entre os anuros encontrados na serapilheira, Brachycephalidae reúne espécies de tamanho diminuto com hábitos diurnos (Izecksohn, 1971; Heyer, *et al.*, 1990; Haddad & Sazima, 1992; Pombal, *et al.*, 1998). Na análise do conteúdo estomacal de *Psyllophryne didactyla*, espécie que pertence a família e constitui o menor tetrápodo conhecido, ácaros representam a maior parte da dieta (Rocha & Sluys, 1998). Para *Brachycephalus ephippium*, foi identificado que colembolas, ortópteros e larvas holometábolos foram consumidas em maior frequência do que a encontrada no ambiente, indicando seletividade de determinados itens alimentares (Pombal, 1992). Entretanto, para a outra espécie do gênero, *Brachycephalus pernix*, uma espécie recentemente descrita (Pombal *et al.*, 1998), ainda não há informações sobre seu hábito e comportamento alimentar.

Visando suprir a carência de informações sobre a alimentação de *B. pernix*, neste trabalho, descrevo o comportamento alimentar e comparo a dieta da espécie com a disponibilidade de alimento no ambiente, tamanho de nicho e preferência no seu hábito alimentar entre duas estações (primavera e inverno).

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Análise do conteúdo gastro-intestinal.*

Durante a primavera de 1996 e o inverno de 1997, cinco indivíduos foram coletados em cada estação na floresta alto-montana no Morro Anhangava, Município de

Quatro Barras - PR (25° 22' S; 48° 58' W; 1.400 m de altitude). A área de estudo localiza-se no cume do morro e é caracterizada por uma vegetação composta por alta densidade de arvoretas, com média de 4 m de altura e possui o solo coberto por densa camada de serapilheira (Roderjan, 1994) (mais informações sobre a área, ver Capítulo I). Imediatamente após a coleta, os indivíduos foram mortos, fixados em formalina a 10% e, posteriormente, conservados em álcool a 70%. Após as análises os espécimens foram depositados no Museu de História Natural “Capão da Imbuía” (MHNCI 3346-55). Em laboratório, com auxílio de paquímetro, foi mensurado o comprimento rostro-anal (CRA) e retirado todo o trato gastro-intestinal de cada exemplar. O conteúdo obtido foi colocado em uma placa de Petri e os itens alimentares foram triados, identificados, contados com o auxílio de um microscópio estereoscópio e, através de uma ocular micrométrica, foi mensurado o tamanho das presas encontradas inteiras. Para a análise da composição da dieta foram adotados dois métodos: o método de frequência de ocorrência, que consiste em verificar o número de tratos digestivos nos quais aparece determinado item alimentar, sendo expresso como uma porcentagem do número total de tratos analisados em cada estação; e o método de frequência numérica, no qual o número de presas de cada item é contado e expresso como uma porcentagem do número total de presas de todos os itens alimentares encontrados em todos os tratos gastro-intestinais (segundo Cruz, 1993).

Para testar a significância da variação entre as frequências numéricas dos itens alimentares e indicar se há ou não uma variação sazonal na alimentação, foi aplicado o teste U de Mann-Whitney adotando um grau de confiança de 95% (Zar, 1996).

### *Análise da fauna da serapilheira.*

Para determinar a disponibilidade de diferentes itens alimentares no ambiente, foram recolhidas amostras de serapilheira na primavera 1996 e no inverno de 1997 nos mesmos locais onde os indivíduos de *B. pernix* foram coletados. Para coleta da serapilheira foi utilizado um quadrante de 60 X 60 cm. A sua fauna foi coletada utilizando o método de separação em Funil de Berlese (Borror & DeLong, 1988). A triagem e a identificação da fauna da serapilheira foram feitas sob microscópio estereoscópio.

A determinação taxonômica dos itens alimentares foi efetuada até o nível de ordem, segundo a classificação de Borror & DeLong (1988), para os artrópodos, e Barnes (1990), para os demais grupos de invertebrados.

### *Análise comparativa dos itens presentes na dieta e a fauna encontrada na serapilheira.*

Para estimar o tamanho de nicho da espécie e definir a presença ou ausência de preferência alimentar, comparei a dieta da espécie (através dos dados da frequência numérica) com a disponibilidade de alimento no ambiente, utilizando o teste de Levin (Krebs, 1989) e o índice de eletividade (Krebs, 1989), tendo como base a fauna obtida nas amostras de serapilheira e no conteúdo gastro-intestinal dos animais analisados. Sendo que os grupos presentes, somente na serapilheira, com valor abaixo de 1,0 foram unidos ao item “outros”

### *Observações naturalísticas.*

Para o registro dos dados comportamentais foram feitas observações naturalísticas em visitas semanais diurnas entre setembro de 1996 a dezembro de 1997. Para as observações foi adotado um misto dos métodos de animal focal e amostragem sequencial (Lehner, 1979) registrando o comportamento individual dos animais.

## RESULTADOS

### *Análise de conteúdo gastro-intestinal.*

Todos os estômagos dos 10 indivíduos amostrados (CRA médio = 11,4 mm; DP = 0,957; 14 machos, 8 fêmeas, 4 não determinados) apresentaram item alimentar. A média do número de itens no estômago de *B. pernix* foi igual a  $13,6 \pm 6,449$  itens/estômago (amplitude: 2 - 24 itens) e o comprimento das presas encontradas inteiras nos conteúdos referente ao período da primavera variou de 0,25 a 1,83 mm, sendo a média igual a  $0,627 \pm 0,298$  mm. Ao passo que no inverno, o comprimento das presas variou de 0,5 a 1,83 mm, com uma média de  $0,72 \pm 0,305$  mm.

Dos grupos de invertebrados registrados (Tab.1), sete foram encontrados na primavera: Acari, Hymenoptera, adultos e larvas de Coleoptera, Colembola, Araneae, Psocoptera e Thysanoptera; e oito no inverno: Acari, larvas e adultos de Coleoptera, Colembola, Hymenoptera, Aranaea, Chilopoda, Gastropoda e larvas de Neuroptera. Sendo que Psocoptera e Thysanoptera foram encontrados apenas na primavera.

Ácaros e coleópteros foram os grupos mais frequentes nos conteúdos estomacais tanto na primavera (100%, 80% respectivamente) quanto no inverno (80%, 80%). Larvas holometábolos também foram frequentes na primavera, apresentando 80% de frequência de ocorrência, ao passo que no inverno foi de 40%. Ao contrário das aranhas que tiveram maior representatividade nas amostras referentes ao inverno (80%) (Tab.1).

Os himenópteros representantes da série parasítica (Chalcidoidea) foram encontrados nas duas amostras e tiveram suas frequências de ocorrência igual em ambas as estações (40%). Os demais grupos amostrados tiveram suas frequências igual a 20%, sendo que apenas colembolas estão presentes nas duas estações (Tab.1).

O grupo de invertebrado predominante nas duas estações amostradas, quanto às frequências numéricas foi Acari com um percentual de 78% na primavera e 64,4%, no inverno; portanto, os demais grupos contribuíram apenas com 22% e 35,6% respectivamente. É importante informar que a maior parte do percentual do item Acari nas duas estações foi constituído por ninfas.

Coleoptera representou 7,7% na primavera e 10,2% no inverno; larvas holometábolos 6,5% e 3,4%; himenópteros da série parasítica 2,6% e 8,5%, respectivamente. Aranhas tiveram sua frequência numérica representativa somente no inverno 6,7%, sendo na primavera de 1,3%. Os demais grupos na primavera somaram 5,2% (colembolas, tisanópteros, psocópteros e aranhas) e no inverno 6,8% (formigas, colembolas, gastrópodos e quilópodos) (Tab.1).

Não foi constatada para *B. pernix*, variação significativa nas frequências numéricas na primavera e no inverno do item predominante em ambas as estações

amostradas e único que pode ser testado, os ácaros (teste U de Mann-Whitney = 0,075; com 95% de confiança  $P_v < 0,05$ ). Indicando portanto, que não houve variação sazonal no consumo de ácaros.

#### *Análise da fauna da serapilheira.*

Na primavera foram registrados 17 grupos: Acari, Hymenoptera, larvas e adultos de Coleoptera, Colembola, Araneae, Diptera, Hemiptera, Chilopoda, Dermaptera, Homoptera, Oligochaeta, Gastropoda, larvas de Lepidoptera, Diplopoda, Isopoda, Opiliones e Pseudoescorpionida, sendo que estes quatro últimos itens foram agrupados na categoria denominada “outros”, devido os seus percentuais individuais serem abaixo de 1%. No inverno, houve ainda o registro de Psocoptera, Ortoptera, adultos e larvas de Lepidoptera (Ortoptera e adulto de Lepidoptera também foram incluídos no item “outros”). Entretanto, há cinco grupos ausentes, quando comparados com a primavera, são eles: Homoptera, Dermaptera, Hemiptera, Pseudoscorpionida e Isopoda, totalizando 15 grupos no inverno.

Como no conteúdo gastro-intestinal, Acari foi o grupo de maior frequência na serapilheira em ambas as estações (22,6% primavera, 58,7% inverno); sendo que, na primavera, as larvas holometábolos tiveram o mesmo percentual que os ácaros (22,6%). Outros grupos com representatividade superior a 5% na primavera foram: formigas (12,3%), coleópteros (11,5%), colembolas (9,5%) e aranhas (6,3%), sendo que no inverno, formigas (10,2%) e coleópteros (13%) estiveram em frequências semelhantes. Aranhas e colembolas tiveram uma diminuição da representatividade no inverno (2,5%),

ao passo que dípteros aumentaram (1,6% na primavera; 5,3% no inverno). Outros itens que estiveram presentes em ambas as estações, mas com percentuais baixos, foram gastrópodos (1,2%; 2%, respectivamente), minhocas (1,2%; 0,5%), além do item “outros” (2,0%; 1,4%) (Tab.1).

#### *Análise comparativa dos itens presentes na dieta e a fauna encontrada na serapilheira.*

Através do teste de Levin para tamanho de nicho, foi possível obter a relação entre a disponibilidade dos itens no ambiente e o consumo feito por *B. pernix*, sendo a correlação pequena tanto na primavera (0,156) quanto no inverno (0,198).

Com o teste de eletividade, em ambas as estações, foi indicado seletividade para alguns tipos de presas. Os grupos que tiveram correlações positivas tanto na primavera quanto no inverno foram Acari ( $E = 0,531$ ;  $0,370$ , respectivamente) e Hymenoptera da série parasítica ( $E = 0,421$ ;  $0,786$ , respectivamente). Araneae apresentou correlação positiva somente no inverno ( $E = 0,670$ ), apresentando um coeficiente maior que ácaros.

#### *Observações naturalísticas.*

Durante o período de estudo foi possível realizar um total de seis observações de indivíduos de *B. pernix* se alimentando, sendo as observações possíveis apenas nos meses de outubro a março, meses em que a espécie encontra-se mais ativa (Ver Cap.I).

Nas duas primeiras observações, o indivíduo localizado estava estático sobre a serapilheira. Após alguns minutos de observação, o indivíduo movimentou lateralmente a cabeça para a sua lateral e com rapidez, protraiendo a língua, capturou uma presa. Logo

em seguida começou a deslocar-se sobre a serapilheira. Na primeira observação identifiquei uma aranha como sendo a presa, ao passo que para as demais observações não foi possível identificar o item predado. Em outra ocasião, o indivíduo caminhava sobre o folheto e com um movimento rápido, direcionou lateralmente a cabeça e protraindo a língua capturou, também, uma presa. Nas demais sessões de observação, registrei diferentes indivíduos caminhando com um deslocamento lento (para descrição do deslocamento, ver Cap.I), movimentando a cabeça para as laterais do corpo e depois de alguns segundos, posicionando a cabeça para a frente. Após alguns minutos de observação, os indivíduos deslocaram-se rapidamente (para descrição do deslocamento, ver Cap.I), alcançando a presa. Em todas as observações, depois da captura da presa, os indivíduos foram vistos movimentando a boca repetitivamente, com a abertura e fechamento dos maxilares (2 a 4 vezes), como se estivessem engolindo a presa.

## DISCUSSÃO

Anfíbios são geralmente considerados oportunistas e suas dietas refletem a disponibilidade de alimento de tamanho apropriado no ambiente (Duellman & Trueb, 1986). Mas, alguns estudos revelaram que algumas espécies de anuros apresentam dieta especializada (Dimmitt & Ruibal, 1980; Lieberman, 1986, Simon & Toft, 1991; Pombal, 1992).

Pombal (1992), estudando a alimentação de *B. ephippium*, obteve um índice de disponibilidade de itens no ambiente significativamente diferente do conteúdo estomacal. *Brachycephalus ephippium* consumiu colembolas, ortópteros e larvas holometábolos

com maior frequência do que a encontrada no ambiente, ao passo que, formigas e ácaros foram consumidos em frequências menores do que as encontradas no ambiente. Porém, para *B. pernix* houve uma preferência alimentar para ácaros e himenópteros da série parasítica em ambas as estações e, no inverno, aranhas também foram selecionadas com maior frequência do que a encontrada no ambiente. Ao contrário de *B. ephippium*, para a qual é sugerido que o fator tamanho não seja limitante na utilização da presa, para *B. pernix* este fator parece ser limitante dada a pequena variação no tamanho das presas (0,25 - 1,83 mm). Possivelmente, esta limitação é consequência do seu reduzido tamanho, visto que *B. pernix* (CRA machos = 12,0-13,3 mm; CRA fêmeas = 14,1-15,8 mm) é menor do que *B. ephippium* (CRA machos = 13,2-15,4 mm; CRA fêmeas = 16,0-17,9 mm) (Pombal *et al.*, 1998). Em geral, espécies menores alimentam-se mais frequentemente de ácaros que as espécies maiores (Simon & Toft, 1991). Para *P. didactyla*, a menor espécie da família, também foi obtido que o item mais consumido foram os ácaros, corroborando esta idéia, embora não foram realizadas comparações com a disponibilidade no ambiente (Rocha & Sluys, 1998).

Muitas espécies de anuros que habitam o solo e a serapilheira consomem ácaros em altas frequências, como por exemplo espécies de *Minyobates*, *Colostethus*, *Dendrobates*, *Hamptophryne*, *Adenomera* (Lieberman, 1986; Simon & Toft, 1991) e *Psyllophryne* (Izecksohn, 1971; Rocha & Sluys, 1998). Para estes e outros gêneros, Toft (1981), classificou os forrageadores em duas categorias “especialistas em formigas” e “não-especialistas em formigas”. Os não-especialistas em formigas comem grandes presas e em proporções maiores do que aquelas disponíveis no ambiente. Especialistas

em formigas capturam uma grande variedade de presas, embora formigas representem a maioria dos itens e são selecionadas em maior proporção do que a disponível no ambiente. Entretanto, Simon & Toft (1991) verificaram que os ácaros seriam equivalentes às formigas na dieta das espécies menores.

Ácaros foram o item mais frequente na dieta de *B. pernix* e foram consumidos em proporções maiores que a disponível no ambiente. Com base na teoria de forrageio ótimo, o custo de procura e perseguição pode ser baixo para ácaros devido ao fato de serem abundantes e de lento deslocamento, porém o custo de digestão deve ser alto em função da presença de quitina (Simon & Toft, 1991). Entretanto, este custo de digestão pode ser abrandado se houver um consumo maior de ninfas do que de adultos, as quais possuem menor quantidade de quitina e, também, outras presas em que a assimilação de energia seja rápida, como por exemplo larvas. No conteúdo estomacal de *B. pernix* foi observado que uma grande proporção dos ácaros constituía-se de ninfas, o que pode, talvez, abrandar este custo de digestão, assim como o consumo em alta frequência de itens de fácil digestão como larvas e himenópteros da série parasítica.

*Brachycephalus pernix* parece não variar sazonalmente no consumo do único item que pode ser testado, os ácaros. Os demais itens apresentaram frequências numéricas muito baixas não possibilitando, assim, aplicar o teste para verificar se houve ou não sazonalidade no seu consumo. Porém, no teste de eletividade todos os itens foram analisados e foi constatado que três itens alimentares, dentre onze consumidos, foram selecionados. São eles: ácaros, himenópteros da série parasítica em ambas as estações amostradas e aranhas no inverno. Considerando zero como tamanho de nicho

mínimo e um como máximo, o tamanho de nicho de *B. pernix* foi pequeno (0,156; primavera e 0,198; inverno) comparado ao tamanho de nicho de *Peltophryne guentheri* (0,61; Parsons, 1995). Portanto, de acordo com os dados do teste de eletividade e tamanho de nicho, *B. pernix* seleciona entre as classes de recursos e, em um contínuo de espécie especialista a generalista, ela está mais próxima de uma espécie especialista.

Heyer *et al.* (1990) afirmam que *Brachycephalus nodoterga* é um predador de espreita de chão de mata, o que não foi estudado para *B. ephippium* ou *P. didactyla*. Considerando um contínuo de forrageador ativo a forrageador de espreita, e analisando as características morfológicas, comportamentais e da dieta, *B. pernix* seria mais adequadamente classificado como forrageador ativo. As observações no campo demonstram que *B. pernix* alimenta-se sobre a serapilheira sempre associado com deslocamentos. Além disso, consumiu pequenas presas em grandes proporções. O item mais frequente na dieta, os ácaros, possuem baixo custo de captura pois são de movimentação lenta mas, de alto custo de digestão, podendo este custo ser diminuído quando na forma de ninfas. Outro fator a ser adicionado é o fato das larvas apresentarem alta taxa de ocorrência na primavera, estação em que estão mais disponíveis, indicando estratégia de predador ativo, uma vez que as larvas são pouco móveis, obrigando o predador a deslocar-se no ambiente para encontrá-las (Huey & Pianka, 1981; Toft, 1981; Simon & Toft, 1991, Pombal, 1992).

A coloração aposemática e a presença de glândulas de veneno na epiderme de *B. pernix* (ver Cap.III) contribuem para corroborar a hipótese de forrageador ativo, uma

vez que forrageadores ativos estão mais sujeitos a predação (Huey & Pianka, 1981; Toft, 1981), eles necessitam de mecanismos de defesa contra predadores.

Portanto, *B. pernix* através das análises morfológicas (coloração aposemática e presença de glândulas de veneno), comportamentais e da composição da dieta, está mais próximo da estratégia de um forrageador ativo, o qual seleciona os itens a serem consumidos e não apresenta mudanças sazonais no consumo do item mais frequente da dieta, os ácaros.

*Agradecimentos.* Agradeço a Emygdio L. A. Monteiro Filho pela orientação e leitura do manuscrito. À José P. Pombal Jr. e Walter A. Boeger, também pela leitura do manuscrito. À Dalton T. R. dos Santos, Danúncia Urban, Luiz G. dos Santos-Neto, Mauricio O. Moura e Vinalto Graff, pelo auxílio na identificação dos artrópodos. À Carla Queijada, Juliana Quadros, João da Costa, Mauricio O. Moura, Mauro Pichorim, Patricia Calil, Paula Nakayama e Richard Z. da Cruz pelo auxílio nas coletas. À Juliana Quadros e Walter A. Boeger pelo abstract. Este estudo, sendo parte da dissertação de mestrado no Curso de Pós-Graduação em Zoologia - UFPR, recebeu apoio financeiro da CAPES e CNPq.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARNES, R. D. 1990. Zoologia dos Invertebrados. Roca Ltda, São Paulo.
- BARRENTINE, C. D. 1991. Food habitats of western toads (*Bufo boreas halophilus*) foraging from a residential lawn. *Herp. Review* 22:84-87.

- BORROR, D. J. & DeLONG, D. M. 1988. Introdução ao Estudos dos Insetos. Ed. Edgard Blücher Ltda, São Paulo.
- BRUYN, L. De; KAZADI, M. & HULSELMANS, J. 1996. Diet of *Xenopus fraseri* (Anura, Pipidae). J. Herpetol. 30:82-85.
- CRUZ, E. F. S. 1993. Aspectos biológicos e ecológicos de duas espécies de *Hyla* do grupo *pulchella*, na região de Botucatu, São Paulo (Amphibia, Anura, Hylidae). Dissertação de Mestrado, não publicada, apresentada no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- DIMMITT, M. A. & RUIBAL, R. 1980. Exploitation of food resources by spadefoot toads (*Scaphiopus*). Copeia 1980:854-862.
- DUELLMAN, W. E. & TRUEB, L. 1986. Biology of Amphibians. Mc Graw-Hill, New York.
- EVANS, M. & LAMPO, M. 1996. Diet of *Bufo marinus* in Venezuela. J. Herpetol. 30:73-76.
- GIARETTA, A. A.; ARAÚJO, M. S.; MEDEIROS, H. F. & FACURE, K. (1998). Food habits and ontogenetic diet shifts of the litter dwelling frog *Proceratophrys boiei* (Wied, 1825). Revta. bras. de Zool. 15:385-388.
- HADDAD, C. F. B. & SAZIMA, I. 1992. Anfíbios anuros da serra do Japi. In: L. P. C. Morellato (ed.), História Natural da Serra do Japi: Ecologia e Preservação de uma Área Florestal no Sudeste do Brasil, pp.188-211. Editora da Unicamp/FAPESP, Campinas.

- HEYER, W. R.; RAND, A. S.; CRUZ, C. A. G.; PEIXOTO, O. L. & NELSON, C. E. 1990. Frogs of Boracéia. Arq. Zool. (S. Paulo) 31:231-410.
- HODAR, J. A.; RUIZ, I. & CAMACHO, I. 1990. La alimentacion de la rana común (*Rana perezi*, Seoane, 1885) en el sureste de la Península Ibérica. Misc. Zool. 14:145-153.
- HUEY, R. B. & PIANKA, E. R. 1981. Ecological consequences of foraging mode. Ecology 62:991-999.
- IZECKSOHN, E. 1971. Novo gênero e nova espécie de Brachycephalidae do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Bol. Mus. Nac. (Zool.) 280:1-12.
- JOHNSON, B. K. & CHRISTIANSEN, J. L. 1976. The food and food habitats of blanchard's cricket frog, *Acris crepitans blanchardi* (Amphibia, Anura, Hylidae), in Iowa. J. Herpetol. 10:63-74.
- KREBS, C. J. 1989. Ecological Methodology. Harper & Row, Publishers, New York.
- LABANICK, G. M. 1976. Prey availability, consumption and selection in the Cricket frog, *Acris crepitans* (Amphibia, Anura, Hylidae). J. Herpetol. 10:293-298.
- LEHNER, P. N. 1979. Handbook of Ethological Methods. Garland, STPM Press, New York.
- LIEBERMAN, S. S. 1986. Ecology of the leaf litter herpetofauna of a neotropical Rain Forest: La Selva, Costa Rica. Acta Zool. Mex.(new series) 15:1-41.
- LIMA, A. P. & MOREIRA, G. 1993. Effects of prey size and foraging mode on the ontogenetic change in feeding niche of *Colostethus stepheni* (Anura: Dendrobatidae). Oecologia 95:93-102.

- MATSUMOTO, Y.; MATSUMOTO, T. & MIYASHITA, K. 1984. Feeding habits of the marine toad, *Bufo marinus*, in the Bonin Islands, Japan. Japanese J. Ecol. 34:289-297.
- PARSONS, K. J. 1995. *Peltophryne guenterii* (NCN). Diet. Herp. Review, 26:202.
- POMBAL, J. P. 1992. História natural de *Brachycephalus ephippium* (Anura, Brachycephalidae), na região de Campinas, Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, não publicada, apresentada no Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- \_\_\_\_\_; WISTUBA, E. M. & BORSCHHEIN, M. R. 1998. A new species of Brachycephalid (Anura) from the Atlantic Rain Forest of Brazil. J. Herpetol. 32:70-74.
- ROCHA, C. F. D. & SLUYS, M. V. 1998. O menor sapo do planeta. Ciência Hoje agosto:68-69.
- RODERJAN, C. V. 1994. O gradiente da floresta ombrófila densa no Morro Anhangava, Quatro Barras, PR Aspectos climáticos, pedológicos e fitossociológicos. Dissertação de Doutorado, não publicada, apresentada no Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- SIMON, M. P. & TOFT, C. A. 1991. Diet specialization in small vertebrates: mite-eating in frogs. Oikos 61:263-278.
- SOLANO, H. 1986. Variations saisonnières du régime alimentaire de *Leptodactylus fuscus* (Anoures Leptodactylidae) dans les "llanos" du Venezuela. Bull. Soc. Zool. FR 111:75-87.

- TOFT, C. A. 1981. Feeding ecology of panamanian litter anurans: patterns in diet and foraging mode. *J. Herpetol.* 15:139-144.
- VITT, L. J. & CALDWELL, J. P. 1994. Resource utilization and guild structure of small vertebrates in the Amazon Forest leaf litter. *J. Zool. (London)* 234:463-476.
- ZAR, J. H. 1996. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

Tab.1 - Fauna da serapilheira da floresta ombrófila densa alto-montana do Morro Anhangava e itens alimentares do conteúdo gastro-intestinal de dez indivíduos de *B. pernix* expressos em frequência de ocorrência e frequência numérica. (PRI - primavera; INV - inverno; FREQ. - frequência; OCOR. - ocorrência; NUM. - numérica). \*O item outros é composto pelos seguintes grupos: Diplopoda, Pseudoescorpionida, Opiliones, Isopoda, Ortoptera e Lepidoptera.

ITEM ALIMENTAR	FAUNA DA SERAPILHEIRA		CONTEÚDO GASTRO-INTESTINAL DE <i>Brachycephalus pernix</i>			
	PRI (n - %)	INV (n - %)	FREQ. OCOR. PRI (n - %)	FREQ. OCOR. INV (n - %)	FREQ. NUM. PRI (n - %)	FREQ. NUM. INV (n - %)
	1. Acari	57 22,6%	230 58,7%	5 100%	4 80%	60 78%
2. Larvas holometábolos	57 22,6%	15 3,8%	4 80%	2 40%	5 6,5%	2 3,4%
3. Hymenoptera série parasítica	0	0	2 40%	2 40%	2 2,6%	5 8,5
4. Formicidae	31 12,3%	40 10,2%	0	1 20%	0	1 1,7
5. Colcoptera	29 11,5%	51 13%	4 80%	4 80%	6 7,7%	6 10,2%
6. Colembola	24 9,5%	9 2,3%	1 20%	1 20%	1 1,3%	1 1,7%
7. Araneae	16 6,3%	5 1,3%	1 20%	4 80%	1 1,3%	4 6,7%
8. Chilopoda	6 2,4%	4 1%	0	1 20%	0	1 1,7%
9. Psocoptera	0	2 0,5%	1 20%	0	1 1,3%	0
10. Thysanoptera	0	0	1 20%	0	1 1,3%	0
11. Gastropoda	3 1,2%	8 2%	0	1 20%	0	1 1,7%
12. Diptera	4 1,6%	21 5,3%	0	0	0	0
13. Dermaptera	7 2,8%	0	0	0	0	0
14. Hemiptera	7 2,8%	0	0	0	0	0
15. Oligochaeta	3 1,2%	2 0,5%	0	0	0	0
16. Homoptera	3 1,2%	0	0	0	0	0
17. Outros*	5 2,0%	5 1,4%	0	0	0	0
TOTAL	252 100%	392 100%	5 100%	5 100%	77 100%	59 100%

**CAPÍTULO III: Morfologia das Glândulas da Epiderme de**  
***Brachycephalus pernix* (Anura: Brachycephalidae).**

**(Manuscrito a ser submetido a revista Naturalia)**

**MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS DA EPIDERME DE *Brachycephalus pernix*  
(ANURA: BRACHYCEPHALIDAE)**

- **RESUMO:** *Brachycephalus pernix* possui uma coloração amarela-alaranjada viva, sugerindo a presença de glândulas de veneno. Através de técnica histoquímica para microscopia de luz, utilizando diferentes colorações (H.E., Tricrômico de Mallory, PAS, Alcian Blue pH 2,5 e 0,5) foram detectados dois tipos glandulares alveolares, os quais diferenciam-se pelo tamanho, tipos celulares e afinidade por corantes diferentes. As glândulas mucosas são menores, arredondadas e o produto de secreção é composto de glicoproteínas neutras, ao passo que, as glândulas granulares são maiores, com formas irregulares, variando de oval a esférica e os grânulos presentes no lúmen desta glândula não possuem natureza glicoproteica.
- **PALAVRAS-CHAVE:** *Brachycephalus*, Anura, epiderme, histologia, glândulas mucosas, glândulas granulares e glândulas de veneno.

**Introdução**

Os anuros apresentam dois tipos principais de glândulas alveolares na epiderme: glândulas mucosas e glândulas granulares<sup>7</sup>. Adicionalmente, podem estar presentes

outros tipos de glândulas com funções específicas como para a reprodução<sup>6, 8, 17</sup>. As glândulas mucosas são geralmente maiores do que as glândulas granulares e diferem na natureza química do seu produto de secreção. As primeiras, armazenam o muco, que tem função de controlar o pH e o grau de umidade da pele evitando a dessecação e propiciando condições adequadas para a realização da respiração cutânea<sup>18</sup>. Ao passo que, as glândulas granulares armazenam substâncias tóxicas, que funcionam primariamente como defesa passiva<sup>19</sup>. Para algumas espécies de salamandras do gênero *Ambystoma*, glândulas granulares da cauda armazenam substâncias adesivas, com função de defesa contra predadores e estas substâncias podem também, beneficiar energeticamente a dieta da salamandra, uma vez que são de natureza proteica<sup>22, 23</sup>

O produto de secreção das glândulas granulares é bem diversificado quanto a sua composição química, seus efeitos farmacológicos e toxicidade<sup>5, 13, 16</sup>. Os trabalhos sobre análise histoquímica das glândulas granulares resultam, na sua maioria, em compostos alcalóides, encontrados principalmente em representantes da família Dendrobatidae<sup>4, 14</sup>. Para a família Brachycephalidae, estudos histoquímicos das glândulas são inexistentes. Porém, Sebben *et al.*<sup>16</sup> isolaram a substância denominada ephippiotoxina dos tecidos de *Brachycephalus ephippium*. Esta substância, semelhante à tetrodotoxina, se injetada é uma potente neurotoxina, a qual pode ser letal para um camundongo dependendo da dose.

Indivíduos adultos de *Brachycephalus pernix* apresentam coloração amarela a alaranjada no dorso e ventre, sendo que, nos flancos e em pequena parte do dorso a coloração é preta<sup>10</sup>. Geralmente estas cores são aposemáticas, ou seja, indicam perigo.

Porém, indivíduos jovens com comprimento rostro-anal (CRA) de 4 mm apresentam coloração diferente dos adultos, a qual constitui-se em um marrom escuro no dorso e cinza no ventre. Esta coloração é próxima à do substrato do seu habitat, conferindo portanto, camuflagem do tipo críptica. A mudança da coloração deve se dar gradualmente junto ao desenvolvimento, pois indivíduos com 6 mm de CRA, apresentam uma faixa amarela no ventre e as pontas dos pés e mãos, também, são amarelos.

Assim, pela carência de informações, este estudo visa a descrição da epiderme de *B. pernix* através de análises histoquímicas para o melhor conhecimento de sua estrutura glandular.

## **Material e Métodos**

*Brachycephalus pernix* é encontrado na serapilheira da floresta alto-montana no Morro Anhangava (1.400 m de altitude), no Município de Quatro Barras, no Estado do Paraná (25° 22'S; 48° 58'W)<sup>14</sup> (detalhes da área de estudo, ver Cap.I). Visando ao conhecimento das características glandulares de sua pele, foram coletados 6 espécimens adultos, com comprimento rostro-anal médio 11,2 mm (sendo, 3 fêmeas; 3 machos). Em laboratório, os animais foram anestesiados com clorofórmio até não responderem a manipulação e mortos por decapitação. Após a remoção da epiderme das regiões ventral e dorsal, o material foi fixado em ALFAC (álcool, formol e ácido acético) por 16 horas. A opção destas áreas se deve ao fato de serem de fácil remoção em função do pequeno tamanho do animal. O material coletado foi desidratado em série alcólica crescente para desidratação, sendo utilizado xilol para diafanização e incluído em Paraplast Plus®.

Cortes de 3 a 5 µm foram montados em lâminas histológicas e submetidas a diferentes corantes, como se segue: Tricrômico de Mallory e Hematoxilina e Eosina (H.E.), a fim de identificar e descrever os tecidos que compõe o material<sup>3</sup>. PAS (ácido periódico - reativo de Schiff), Alcian Blue pH 0,5 e pH 2,5 para identificação do produto de secreção das glândulas. Sendo que, o primeiro corante detecta glicoproteínas neutras, enquanto que, o segundo e o terceiro corantes detectam glicoproteínas carboxiladas e sulfatadas, com a diferença que com o pH 0,5 identifica-se mais glicoproteínas sulfatadas do que as carboxiladas e com o pH 2,5; as carboxiladas coram na mesma proporção das sulfatadas<sup>1, 11</sup>. O material foi analisado e fotografado com auxílio de um Fotomicroscópio Olympus PM-10AD.

## **Resultados e Discussão**

Histologicamente a epiderme de *B. pernix*, confere com a descrição feita para os anuros<sup>7</sup>. Através da coloração H.E. e Tricrômico de Mallory, o epitélio foi classificado, segundo Cormack<sup>2</sup>, como sendo do tipo pavimentoso estratificado queratinizado. A camada de queratina é bem delgada e o epitélio é formado por poucas camadas de células. Há um tecido conjuntivo frouxo onde estão mergulhadas as glândulas, seguido por uma camada de conjuntivo denso rico em colágeno e, adjacente a este, encontra-se tecido muscular liso.

Nos cortes da região dorsal, foi observado no tecido conjuntivo frouxo acima das glândulas e na porção basal do tecido conjuntivo denso, uma camada de cromatóforos (Fig.1). Já na região ventral, os cromatóforos são escassos. Isso deve-se ao fato, de que

os cromatóforos armazenam os pigmentos que conferem à espécie a coloração escura, presente apenas nos flancos e no dorso do animal.

As glândulas presentes na epiderme de *B. pernix* são de dois tipos, apresentando tamanhos, tipos celulares e afinidades por corantes diferentes. O primeiro tipo glandular apresenta tamanho menor, forma arredondada regular e as células que delimitam a glândula são do tipo cúbico simples. O material corado com PAS (Fig.2A), tiveram o produto de secreção presente no lúmen, positivo pelo PAS, detectando assim, a presença de glicoproteínas neutras compondo o muco, caracterizando esta glândula como mucosa.

O outro tipo glandular possui maior tamanho, forma irregular, variando de esférica a oval. A glândula é formada por uma camada de células, sem forma definida, localizada na periferia da glândula. No lúmen, desta glândula, é possível observar grânulos de secreção, os quais são levados para a superfície da epiderme, através de um ducto secretor simples (Fig.2B). Este tipo glandular constitui as glândulas granulares. Técnicas de microscopia eletrônica descrevem mais detalhadamente os tipos e estruturas associadas a este tipo de glândula. Ao redor das células epiteliais responsáveis pelo produto de secreção das glândulas granulares, estão presentes células mioepiteliais, as quais possuem função contrátil e possivelmente auxiliam as células secretoras, na extrusão do produto de secreção à superfície da epiderme <sup>9, 12, 14, 18, 20, 21</sup>.

Os grânulos presentes no lúmen das glândulas granulares apresentaram resultado negativo para os testes histoquímicos (PAS; Alcian Blue pH 2,5 e pH 0,5). Portanto, o produto de secreção destas glândulas, possivelmente um veneno, não possui natureza glicoproteica, sendo necessárias análises específicas para definir a sua composição.

Sebben *et al.*<sup>16</sup>, isolou uma substância semelhante a tetrodotoxina, a qual constitui uma potente neurotoxina, sem natureza proteica e que é encontrada em moluscos, peixes e anuros do gênero *Atelopus*.

Desta forma considerando que: a) a coloração viva de *B. pernix* indica perigo; b) a espécie é de hábito diurno; c) nos meses mais úmidos e quentes do ano é comum encontrar indivíduos caminhando sobre a serapilheira (ver Cap.I); d) a espécie está mais próxima de ser classificada como um forrageador ativo (ver Cap.II) e, e) seu deslocamento é lento e não possui um salto eficiente (ver Cap.I), dificultando assim as tentativas de fuga, será de fundamental importância que as glândulas granulares apresentem algum tipo de toxina que possa ser utilizada nos mecanismos de defesa de forma semelhante aos que ocorrem nos gêneros *Bufo*, *Dendrobates*, *Phylllobates*, *Leptodactylus*, *Physalaemus*, *Rana*, *Bombina*, *Alytes*, *Phyllomedusa*, entre outros<sup>5, 14, 18</sup>.

*Agradecimentos.* Agradeço a Emygdio L. A. Monteiro Filho pela orientação e leitura dos manuscritos. À Ciro A. de Oliveira Ribeiro, Silvia R. Z. da Cruz, Sonia Grötzner e a Juliana Quadros, também, pela leitura do manuscrito. Agradeço aos membros do Laboratório de Impacto Ambiental do Depto de Biologia Celular da UFPR, especialmente nas pessoas de Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Edith Fanta, Silvia Romão Z. da Cruz, Sonia Grötzner, Ana Cristina C. Vianna, Lucélia Donatti e Paula Nakayama. À Marcus V. Domingues, Flávio Popazoglo, Marcelo Bordignon e Ana Paula Mendes pelo auxílio na coleta dos exemplares. À Juliana Quadros e Walter A. Boeger pelo abstract. Este

*estudo, sendo parte da dissertação de Mestrado no Curso de Pós-Graduação em Zoologia - UFPR, teve apoio financeiro da CAPES e CNPq.*

WISTUBA, E. M. Morphology of the glands in skin of *Brachycephalus pernix* (Anura: Brachycephalidae). *Naturalia* (São Paulo).

- *ABSTRACT: The life colour of Brachycephalus pernix suggests the presence of poison glands. Histochemistry techniques for light microscopy,, utilizing different stains (H.E., Trichromatic of Mallory, P.A.S., Alcian Blue pH 2,5 and pH 0,5), detected two alveolar glands which differ in size, celular types, and stain affinity. Mucosa glands are relatively small, round and secret neuter glycoproteins. On the other hand, granular glands are relatively large, irregular in shape (varying from oval to spherical), and the granules in the lumen of this gland are not glycoproteic.*
- *KEYWORDS: Brachycephalus, Anura, skin, histology, mucosa glands, poison glands, granular glands.*

#### *Referências bibliográficas*

- 1 CLARK, G. *Staining procedures*. 4.ed. Baltimore: The Willians & Wilkins Company, 1981. 512p.

- 2 CORMACK, D. H. *Ham Histologia*. 2.ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1991. 570 p.
- 3 CULLING, C. F. A.; ALISSON, R. T. & BARR, W. T. *Cellular pathology technique*. 4.ed. London: Butterworth, 1985. 642p.
- 4 DALY, J. W.; BROWN, G. B.; MENSAH-DWUMAH, M. & MYERS, C. Classification of skin alkaloids from neotropical poison-dart frogs (Dendrobatidae). *Toxicon*, v.16, p.163-188, 1978.
- 5 DALY, J.W.; MYERS, C.W. & WHITTAKER, N. Further classification of skin alkaloids from neotropical poison frogs (Dendrobatidae), with a general survey of toxic/noxious substances in the Amphibia. *Toxicon*, v.25, p.1023-1095, 1987.
- 6 DE LUCA, I. M. S.; GIARETTA, A. A.; ALBERTO-RINCON, M. C. & BECHARA, I. J. Morphological study of the sexually dimorphic inguinal glands of *Cicloramphus dubius* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Braz. J. morphol. Sci.*, v.13, p.19-24, 1996.
- 7 DUELLMAN, W. E. & TRUEB, L. *Biology of amphibians*. 1.ed. New York: McGraw-Hill Inc., 1986. 670p.
- 8 EPSTEIN, M.S. & BLACKBURN, D. G. Histology and histochemistry of androgen-stimulated nuptial pads in the leopard frog, *Rana pipiens*, with notes on nuptial gland evolution. *Can. J. Zool.*, v.74, p.472-477, 1997.
- 9 JARED, C.; TOLEDO, R. C.; ANTONIAZZI, M. M.; KATCHBURIAN, E. & HAAPALAINEN, E. F. Ultrastructure of amphibian integument: cutaneous

- glands in *Corythomantis greeningi* (Amphibia: Anura), na hylidae from the caatinga (Brazilian semi-arid). *Acta Microscopica*, v.6, p.716-717, 1997.
- 10 POMBAL, J. P. JR.; WISTUBA, E. M. & BORSCHEIN, M. R. A new species of Brachycephalid (Anura) from the Atlantic Rain Forest of Brazil. *J. Herpetol.*, v.32, 70-74, 1998.
- 11 MAIA, V. *Técnicas histológicas*. 2.ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1979, 246p.
- 12 MILLS, J. W. & PRUM, B. E. Morphology of the exocrine glands of the frog skin. *Am. J. Anat.*, v.171, p.91-106, 1984.
- 13 MYERS, C. W. & DALY, J. W. Dart-poison frogs. *Scient. Am.*, v. 248, p.96-105, 1983.
- 14 NEUWIRTH, M.; DALY, J. W.; MYERS, C. W. & TICE, L. W. Morphology of the granular secretory glands in skin of poison-dart frogs (Dendrobatidae). *Tiss. Cell*, v.11, p.755-771, 1979.
- 15 RODERJAM, C. V. *O gradiente da floresta ombrófila densa no Morro Anhangava, Quatro Barras, PR. Aspectos climáticos, pedológicos e fitossociológicos*. 1994. 119p. Dissertação (Doutorado em Ciências Agrárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- 16 SEBBEN, A.; SCHWARTZ, C. A.; VALENTE, D. & MENDES, E. G. A tetradotoxin-like substance found in the brazilian frog *Brachycephalus ephippium*. *Toxicon*, v.24, p.799-806, 1986.

- 17 THOMAS, E. O.; TSANG, L. & LIGHT, P. Comparative histochemistry of the sexually dimorphic skin gland of anuran amphibians. *Copeia*, v.1, p.133-143, 1993.
- 18 TOLEDO, R. C. Breve apreciação sobre a secreção cutânea dos anfíbios. *Ci. e Cult.*, v.38, p.279-284, 1986.
- 19 TOLEDO, R. C. & VILLA, N. Estudo histológico das glândulas tibiais (ou paracnêmicas) de *Bufo paracnemis* (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Rev. Brasil. Biol.*, v.47, p.257-264, 1987.
- 20 TOLEDO, R. C.; JARED, C. & BRUNNER, A. Jr. Morphology of the large granular alveoli of the paratoid glands in toad (*Bufo ictericus*) before and after compression.. *Toxicon*, v.30, p.745-753, 1992.
- 21 VALENTE, M. M.; MOMBRUM DE CARVALHO, I. & JORGE, M. C. L. Ultrastructure of the skin mucous glands of *Bufo crucifer* (Amphibia - Anura). *Acta Microscopica*, v.6, p.800-801, 1997.
- 22 WILLIAMS, T. A. & LARSEN, J. H. JR. New function for the granular skin glands of the eastern long-toed salamander, *Ambystoma macrodactylum columbianum*. *J. of Exp. Zool.*, v.239, p.229-333, 1986.
- 23 WILLIAMS, T. A. Technique to isolate salamander granular gland products with a comment on the evolution of adhesiveness. *Copeia*, p.540-541, 1994.

**Legenda das figuras:**

**Figura 1:** Fotomicrografia óptica em corte longitudinal da epiderme dorsal de *B. pernix* (**e** →) epiderme; (**cf**) tecido conjuntivo frouxo; (**cd**) tecido conjuntivo denso; (**ms**) tecido muscular; (**g**) glândula granular (**m**) glândula mucosa; (▶) cromatóforos. Coloração H.E. Aumento: 400X.

**Figura 2** - Fotomicrografia óptica em corte longitudinal da epiderme dorsal de *B. pernix*: (**2A**) glândula mucosa: (**n**) núcleos; (**m**) produto de secreção no lúmen da glândula, muco. Coloração PAS com Verde Luz e (**2B**) glândula granular: (**l**) lúmen; (**d**) ducto da glândula; (→) cromatóforos; (**s**) grânulos de secreção. Coloração H.E. Aumento: 1.000X.

