

Universidade Federal de Uberlândia - Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação
dos Recursos Naturais

**Ecologia reprodutiva de duas espécies de *Leptodactylus* e a evolução de
caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos no grupo de
L. pentadactylus (Anura, Leptodactylidae)**

Wagner Rodrigues da Silva

2009

Wagner Rodrigues da Silva

Ecologia reprodutiva de duas espécies de *Leptodactylus* e a evolução de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos no grupo de *L. pentadactylus* (Anura, Leptodactylidae)

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Orientador

Prof. Dr. Ariovaldo Antônio Giaretta

UBERLÂNDIA

Fevereiro - 2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S586e Silva, Wagner Rodrigues da, 1980-

Ecologia reprodutiva de duas espécies de *Leptodactylus* e a evolução de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos no grupo de *L. pentadactylus* (Anura, Leptodactylidae) / Wagner Rodrigues da Silva. - 2009.

117 f. : il.

Orientador: Ariovaldo Antônio Giaretta.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Inclui bibliografia.

1. Anuro - Reprodução - Teses. 2. Anuro - Ecologia - Teses. I. Giaretta, Ariovaldo Antônio. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. III. Título.

CDU: 597.8-116

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à minha família, especialmente aos meus pais Valdeídes da Silva e Arlene Rodrigues, pelo apoio imprescindível. Ao meu orientador, Ariovaldo A. Giaretta, pela orientação da presente tese e empenho na minha formação profissional. À Kátia G. Facure pelo auxílio nas análises estatísticas. Aos colegas de Laboratório, principalmente a Luciano E. Oliveira, Leandro Magrini, Lucas B. Martins e Hugo Costa, pela ajuda nos trabalhos de campo. Aos pesquisadores W. Ronald Heyer e Walter Hodl pela leitura crítica de versões iniciais dos manuscritos. Aos diretores e proprietários das áreas deste estudo por permitir a realização dos trabalhos em suas propriedades. Ao IBAMA pela concessão de autorizações para coleta de exemplares biológicos. Ao órgão de fomento CAPES pelo apoio financeiro.

ÍNDICE

	<i>Página</i>
<i>RESUMO</i>	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. OBJETIVOS GERAIS	04
3. MATERIAL E MÉTODOS (GERAL)	05
4. PRIMEIRO CAPÍTULO	21
5. SEGUNDO CAPÍTULO	35
6. TERCEIRO CAPÍTULO: PARTE I	61
7. TERCEIRO CAPÍTULO: PARTE II	78
8. CONCLUSÕES GERAIS	95
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

RESUMO

Silva, Wagner R. 2009. Ecologia reprodutiva de duas espécies de *Leptodactylus* e a evolução de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos no grupo de *L. pentadactylus* (Anura, Leptodactylidae). Tese de Doutorado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. UFU. Uberlândia-MG. 117p.

A Ecologia Histórica unifica conceitos em ecologia, comportamento e filogenia. Na presente tese, descrevi a ecologia reprodutiva de duas espécies-chave, *L. labyrinthicus* e *L. syphax* (Anura, Leptodactylidae), a fim de determinar o contexto evolutivo de caracteres reprodutivos no grupo de *Leptodactylus pentadactylus* e também explorar questões como a predação e seleção de hábitat. As observações de campo e experimentais (2004–2008) foram realizadas em áreas de Cerrado nas regiões central e sudeste do Brasil. As condições ecológicas dos sítios de oviposição foram caracterizadas em relação ao entorno (pontos aleatórios). Conduzi experimentos com girinos para descrever o horário de atividade, comportamento de refúgio e susceptibilidade à predação por aves. Para determinar se desovas de *L. syphax* possuem ovos tróficos (alimento para girinos), analisei a proporção de ovos/embriões em ninhos recentes. Testei se girinos de ambas as espécies conseguem predação ovos de ninhos de espuma heteroespecíficos. *Leptodactylus labyrinthicus* (140 mm tamanho) reproduz em poças temporárias ou permanentes em ambientes brejosos enquanto que *L. syphax* (70 mm) utiliza regatos rochosos e sazonais. Ambas as espécies depositam seus ovos em ninho de espuma formado pelo casal durante o amplexo; os machos batem a espuma com suas pernas/pés executando movimentos laterais na região cloacal da fêmea. Os ninhos foram encontrados próximos à água, geralmente em bacias escavadas pelos adultos. Essas espécies não distribuem seus ninhos aleatoriamente no ambiente e selecionam sítios de oviposição cujas condições particulares (e.g., em abrigos, próximos à água) provavelmente conferem proteção relativa contra os principais fatores de mortalidade de seus ovos/embriões (e.g., dessecação, predação por larvas de moscas). A seleção de micro-ambientes de desova envolvendo estratégias moduláveis em resposta a variações espaciais e temporais tem sido reportada para várias espécies de anuros em contextos ecológicos diversos. Em contraste a *L. labyrinthicus*, as desovas de *L. syphax* não possuem ovos tróficos, pois a maioria (90%) dos ovos se desenvolve. Nos experimentos, aves (sabiá-poca) predaram girinos expostos de *L. labyrinthicus*, mas nenhum girino foi consumido no tratamento em que eles podiam se esconder. Portanto, o

hábito noturno e a utilização de refúgios diurnos devem proteger os girinos de tais predadores. Os girinos de *L. labyrinthicus* são capazes de predação de ovos de ninhos de espuma heteroespecíficos, mas os de *L. syphax* não. Se o grupo de *L. pentadactylus* é monofilético, bacias escavadas e batimento da espuma em movimentos laterais podem ser possíveis derivações exclusivas do grupo. No entanto, adultos grandes, girinos carnívoros e desovas com ovos tróficos parecem representar sinapomorfias correlatas (evolução associada) de um subgrupo restrito. Com base nessa associação de caracteres, será possível prever aspectos-chave da ecologia reprodutiva (e.g., ovos tróficos, girinos oófagos) das 19 espécies do grupo de *L. pentadactylus* com base no tamanho corporal (CRC) de adultos.

Palavras-chave: *Leptodactylus labyrinthicus*, *Leptodactylus syphax*, Ecologia Histórica, caracteres reprodutivos, filogenia, contexto evolutivo, seleção de hábitat.

ABSTRACT

Silva, Wagner R. 2009. Reproductive ecology of two species of *Leptodactylus* and the evolution of morphological, behavioural and ecological characters in the *L. pentadactylus* species group (Anura, Leptodactylidae). Tese de Doutorado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. UFU. Uberlândia-MG. 117p.

Historical Ecology unifies concepts in ecology, behavior and phylogeny. To determine the evolutionary context of reproductive characters within the *Leptodactylus pentadactylus* species group and also to explore questions such as predation and habitat selection, I described the reproductive ecology of two key species, *L. labyrinthicus* and *L. syphax* (Anura, Leptodactylidae). Field observations and experiments (2004–2008) were carried out in areas of Cerrado in southeastern and central Brazil. I characterized the oviposition sites of the two species by comparing the ecological conditions of the egg-laying sites with those of nearby random points. Experiments with tadpoles were also conducted to describe their diel pattern of activity, hiding behaviour and level of susceptibility to predation by free-ranging birds. I determined whether *L. syphax* clutches have trophic eggs (tadpole food) by quantifying the proportion of eggs/embryos in recent nests. I also tested whether tadpoles of both species could prey on eggs of heterospecific foam nests. *Leptodactylus labyrinthicus* (140 mm SVL) breeds in temporary or permanent pools in swamps while *L. syphax* (70 mm) occurs in rocky and seasonal streams. Both species lay their eggs embedded in a white foam nest built by the amplexant pair; males beat the female cloacal fluids with both legs moving from side to side. Their foam nests were found beside the water, usually in basins excavated by the adults. Both species probably do not distribute their nests randomly across the environment, but actively choose micro-habitats with particular conditions (e.g., sheltered, close to water) that may provide relative protection for eggs/nestling tadpoles against the main risks present in their breeding sites (e.g., drying, maggot's infestation). Oviposition site selection including flexible strategies on the choice of micro-habitats in response to spatial and temporal variations has been reported for several frog species. In contrast to *L. labyrinthicus*, the clutches of *L. syphax* do not have trophic eggs, because most (90%) of the eggs develop into tadpoles. In the experiments, birds (leaf-scrappers) ate all exposed tadpoles of *L. labyrinthicus*, but no tadpole in the treatment where they could hide. Hence, the use of diurnal shelters and nocturnal habits may protect the tadpoles from such visual predators.

Tadpoles of *L. labyrinthicus* can prey on eggs from heterospecific foam nests, but those of *L. syphax* do not. If the *L. pentadactylus* species cluster is monophyletic, excavated basins and foam-beating in lateral motions may be possible derived traits that arose in the common ancestor of the whole group. However, large adults, carnivorous tadpoles, and trophic eggs appear to be congruent synapomorphies of a less inclusive group. Based on this possible association of derived traits, the major reproductive features (e.g., trophic eggs, tadpole morphology and behaviour) of species of the *L. pentadactylus* group could be inferred largely from the body size (SVL) of adults.

Keywords: *Leptodactylus labyrinthicus*, *Leptodactylus syphax*, Historical Ecology, reproductive traits, phylogeny, evolutionary context, habitat selection.

**Ecologia reprodutiva de duas espécies de *Leptodactylus* e a evolução
de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos no grupo
de *L. pentadactylus* (Anura, Leptodactylidae)**

INTRODUÇÃO GERAL

Contextualização

A Ecologia Histórica (sensu Brooks e McLennan 1991) constitui uma disciplina relativamente recente da Ecologia e unifica conceitos e metodologias em filogenia (eixo temporal), comportamento e ecologia na busca de possíveis padrões e mecanismos relacionados aos processos de especiação e adaptação. Essa abordagem explora a interface entre Ecologia e Evolução e fundamenta-se em métodos filogenéticos comparativos (sensu Diniz-Filho 2000). Em essência, os estudos de Ecologia Histórica procuram interpretar a história evolutiva (e.g., homologias, homoplasias, ponto de origem, sequência de transformação) e o contexto adaptativo (associação/correlações entre caracteres ou entre esses e o ambiente) de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos tendo como base hipóteses filogenéticas (topologias) e dados interespecíficos (Maddison e Maddison 1992; Diniz-Filho 2000; Autumn et al. 2002; Brooks e McLennan 2002; Grandcolas e D’Haese 2003).

A série de transformação dos caracteres com melhor suporte (mais parcimoniosa) pode ser determinada em relação a uma dada topologia por procedimentos de otimização com análises estatísticas (e.g., mapeamento) ou de maneira puramente qualitativa em decorrência da carência de dados interespecíficos e/ou topologias (Harvey e Pagel 1991; Maddison e Maddison 1992; Brooks e McLennan 2002). Além disso, o sinal filogenético de caracteres comportamentais, ecológicos e de história de vida pode ser utilizado também no estabelecimento de inter-relações filogenéticas, principalmente dentro de um contexto de evidência total proveniente de diferentes bases de dados (De Queiroz e Wimberger 1993; Brooks e McLennan 2002; Grant et al. 2006).

E ainda como extensão e aplicação ulteriores da Ecologia Histórica, a consideração do eixo temporal (filogenia, história evolutiva) tem permitido interpretações mais objetivas, robustas e multidimensionais (e.g., micro e macro-evolução; escalas local e regional) de processos e mecanismos envolvidos na estruturação de comunidades biológicas no que refere à distribuição e associação de espécies e suas interações ecológicas (e.g., Ricklefs e Schluter 1993; Webb et al. 2002).

Táxon modelo

Diversas linhagens de anuros (e.g., Leiuperidae, Leptodactylidae) são conhecidas por colocar ovos em meio a um ninho de espuma, o qual é formado pelos parentais durante o amplexo (Duellman e Trueb 1994). Entre os leiuperídeos e leptodactilídeos, o ninho de espuma é encontrado na maioria dos gêneros (e.g., *Physalaemus*, *Leptodactylus*) e espécies. A postura de ovos em ninhos de espuma provavelmente representa uma adaptação com contexto primariamente anti-predatório, pois oferece refúgio para ovos e girinos recém-eclodidos contra predadores aquáticos (Downie 1988, 1990; Menin e Giaretta 2003; Giaretta e Menin 2004). Entretanto, as desovas em espuma não estão livres de predadores como larvas de certas moscas (Diptera) e algumas serpentes (Villa et al. 1982; Menin e Giaretta 2003; Muniz e Silva 2005).

Os anuros leptodactilídeos estão amplamente distribuídos nos trópicos americanos (Heyer et al. 1990) e diversos elementos apontam para esse táxon como modelo pertinente para estudos sobre adaptações comportamentais, ecológicas e de história de vida, tais como: *a*) taxonomia relativamente bem resolvida, com revisões de determinados grupos e subgrupos (e.g., Heyer 1978, 1979, 1994, 2005); *b*) monofiletismo do táxon avaliado em artigos recentes (e.g., Roelants et al. 2007); *c*) hipóteses propostas sobre a relação filogenética entre e dentro de gêneros diversos (Miyamoto 1981; Larson e De Sá 1998; De

Sá et al. 2005; Ponssa 2008); *d*) grande diversidade em espécies e níveis taxonômicos altos (Frost 2007) e *e*) uma variedade de modos reprodutivos (Crump 1974; Prado et al. 2002).

Os estudos de Sistemática dos Leptodactylidae ainda são iniciais e incompletos, porém já representam uma base teórica sobre a qual a história evolutiva e o contexto adaptativo de caracteres comportamentais, ecológicos e de história de vida das espécies podem começar a ser analisados. Além do mais, o sinal filogenético de atributos comportamentais e ecológicos pode colaborar em discussões referentes ao monofiletismo de grupos/subgrupos e suas relações filogenéticas internas. Por exemplo, o possível parafiletismo do gênero *Leptodactylus* em relação à *Adenomera* é discutido em Kokubum e Giaretta (2005) com base em dados de história natural (e.g., canto de corte, construção de tocas, girinos ninhegos capazes de gerar espuma própria).

Considerando a diversidade de Leptodactylidae, estudos de auto-ecologia de seus membros podem contribuir ainda para o entendimento de várias questões teóricas específicas em comportamento e ecologia. Com base em estudos já realizados e outros em andamento, consideramos as espécies desse grupo particularmente interessantes como modelos no entendimento de fenômenos biológicos como: relação tamanho do corpo/tamanho do ovo (Giaretta e Kokubum 2004), seleção sexual, cuidado à prole, terrestrialidade na reprodução (Giaretta e Kokubum 2004; Kokubum e Giaretta 2005), ovos tróficos e oofagia na fase larval (Silva et al. 2005; Silva e Giaretta 2008a), mecanismos comportamentais e fisiológicos de resistência a estresse hídrico na fase larval, comunicação sonora intra e interespecífica (Silva et al. 2008) e seleção de sítios de oviposição (Silva e Giaretta 2008b).

OBJETIVOS GERAIS

Nesta tese, utilizamos duas espécies de anuros de Leptodactylidae (*Leptodactylus siphax* e *L. labyrinthicus*) como modelos de estudo em questões sobre comportamento, ecologia e evolução. Descrevemos aspectos qualitativos e quantitativos da ecologia reprodutiva de ambas as espécies, com dois objetivos maiores:

(1) integrar dados comportamentais, ecológicos e de história de vida em estudos filogenéticos comparativos procurando gerar e testar hipóteses sobre o ponto de origem, sequência de transformação e de associação entre esses caracteres no grupo de espécies de *Leptodactylus pentadactylus* (sensu Heyer 1979), dentro de um contexto de Ecologia Histórica (sensu Brooks e McLennan 1991, 2002), e

(2) explorar questões específicas da ecologia tais como, interações predador-presa (e.g., oofagia, horário de atividade) e seleção de hábitat (e.g., micro-hábitat de refúgio, seleção de sítios de oviposição).

MATERIAL E MÉTODOS (GERAL)

Áreas de estudo

A coleta de dados foi realizada em diferentes áreas de Cerrado nas regiões centro-oeste e sudeste do Brasil, especificamente em uma (1) localidade no vale do rio Paranaíba (18°29'S, 48°30'O; 550 m altitude), Município de Araguari (MG), e em três reservas biológicas: (2) Áreas no entorno do Parque Nacional da Serra do Cipó (19°12'S, 43°30'O; 1200 m), Município de Santana do Riacho (MG); (3) Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó (18°55'S, 48°17'O; 750 m), Município de Uberlândia (MG) e (4) Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (17°43'S, 48°40'O; 900 m), Município de Caldas Novas (GO). Em geral, o clima desses locais é quente/úmido de setembro a março e seco/frio de abril a agosto, com precipitação média anual de aproximadamente 1500 mm (Figura 1) (Oliveira e Marquis 2002; Eterovick e Sazima 2004).

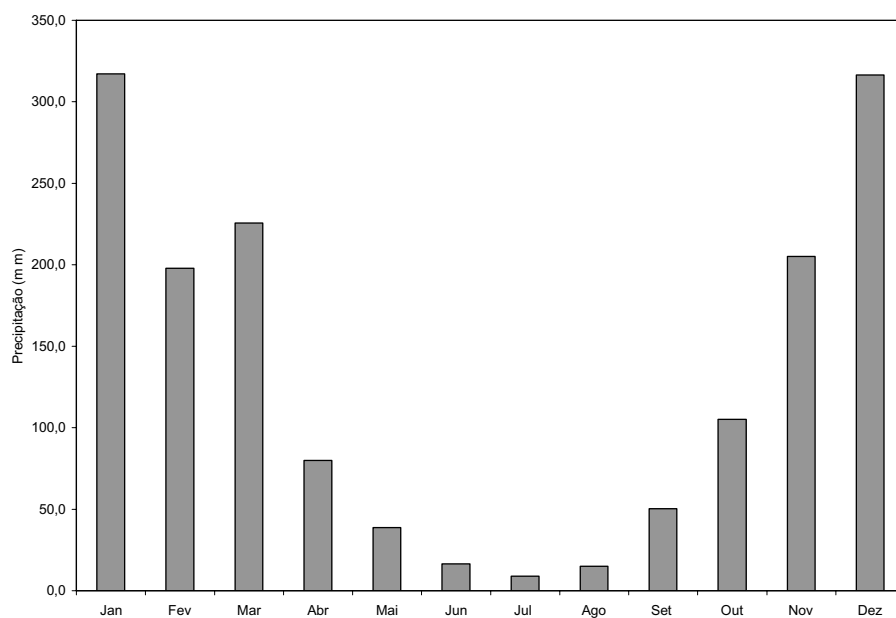


Figura 1. Padrão anual de precipitação com a sazonalidade típica das áreas deste estudo. Uberlândia (MG). Fonte: CEMIG - dados entre 2001–2007.

Abaixo, segue uma descrição detalhada dos locais onde os dados foram coletados:

(1) Vale do Rio Paranaíba (Araguari MG)

Este vale consiste em uma área de baixada (550 m altitude) entre paredões rochosos próxima ao Rio Paranaíba e é coberta por vegetação arbórea decídua ou arbustiva. Conduzimos as coletas em um lago artificial permanente (*ca.* 1–1,5 m profundidade; 6–15 m diâmetro) (Figura 2) e em três regatos rochosos sazonais ou permanentes (1–6 m largura; < 2 m profundidade). A vazão dos cursos d'água depende essencialmente do regime de chuvas, porém alguns locais sombreados e mais profundos retêm água mesmo na estação seca. No período chuvoso, o volume e fluxo de água também variam consideravelmente e estiagens prolongadas (até 45 dias) resultam na formação de poças rasas e isoladas (remansos) (*ca.* 10–90 cm profundidade) que podem secar completamente (Figura 3). Os regatos são margeados por vegetação arbórea (*ca.* 3 m altura) e intercalados por áreas alteradas, cobertas por gramíneas (e.g., *Brachiaria*) e utilizadas para pastagem. Fezes do gado e carcaças em decomposição foram encontradas com frequência no interior dos cursos d'água. Os regatos são rochosos, mas alguns trechos possuem solo arenoso ou terra/argila.



Figura 2. Lago artificial permanente em área de pastagem utilizado por *Leptodactylus labyrinthicus* como sítio reprodutivo. Araguari (MG), Brasil.



Figura 3. Regato rochoso sazonal em período de estiagem, quando ocorre a formação de poças rasas e isoladas (remansos). Ambiente de reprodução de *Leptodactylus sypfax*. Araguari (MG).

2) Áreas no entorno do Parque Nacional da Serra do Cipó

A Serra do Cipó localiza-se na porção sul da Cadeia do Espinhaço (MG), com elevações em torno de 1200 m de altitude. O solo é raso e arenoso e permite o crescimento de diversas formações vegetais como matas ciliares, manchas de cerrado e principalmente campos rupestres. Riachos rochosos temporários (Figura 4) ou permanentes com corredeiras ou pequenas quedas d'água são os corpos d'água mais comuns na Serra, os quais são margeados por vegetação herbácea e arbustiva (Eterovick e Sazima 2004).



Figura 4. Regato sazonal em campo rupestre em área recém-queimada, onde encontramos desovas de *Leptodactylus syphax*. Serra do Cipó (MG).

3) Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó

Esta reserva pertence ao consórcio empresarial do Clube Caça e Pesca Itororó e localiza-se na periferia da cidade de Uberlândia (MG), com 300 ha de área total aproximadamente. A vegetação local inclui formações secundárias de cerrado típico, veredas (brejos) e algumas áreas invadidas por espécies exóticas (e.g., *Brachiaria*). Neste local, coletamos os dados em uma área de vereda (600 m²) com vegetação baixa (e.g., Poaceae), em uma área ajardinada (300 m²) próxima a instalações de infra-estrutura do clube (Figura 5 abaixo), em locais às margens de um lago permanente (40 m diâmetro maior; ca. 2 m profundidade) e em três poças temporárias (1–30 m diâmetro maior; <1 m profundidade.) (Figura 5 acima) (Silva et al. 2005). Poças temporárias (n=4) localizadas em terrenos baldios na periferia da cidade também foram amostradas.

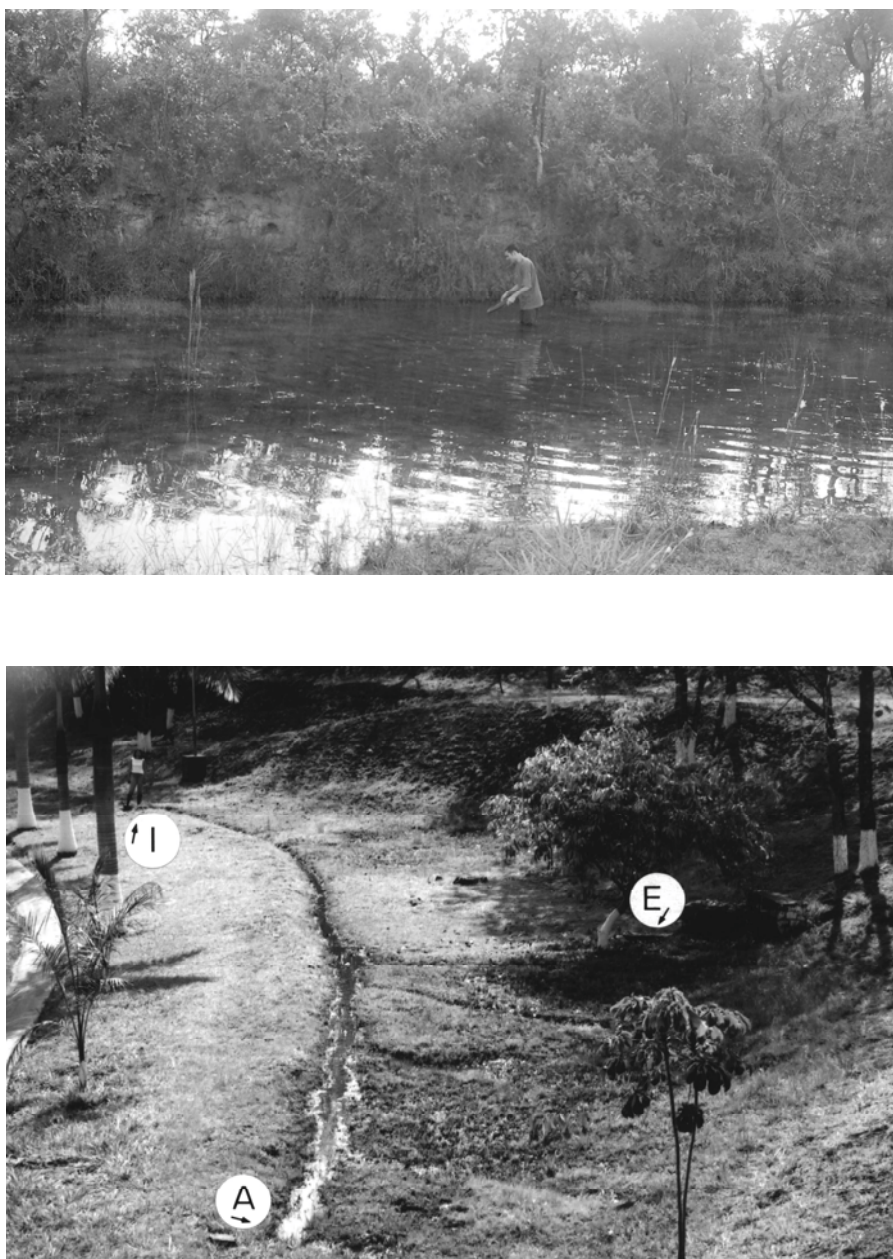


Figura 5. Locais de reprodução de *Leptodactylus labyrinthicus*. **Acima:** poça temporária; **Abaixo:** área brejosa ajardinada e próxima a construções humanas; as letras indicam os principais sítios de vocalização e oviposição da espécie. Caça e Pesca, Uberlândia (MG).

4) Parque Estadual da Serra de Caldas Novas

O Parque localiza-se na região sudeste do estado de Goiás próximo à cidade de Caldas Novas e possui uma área de 12.500 ha em formato elíptico. A altura média da Serra é de 1.043 m. Quanto à disponibilidade hídrica, o platô da serra possui apenas pequenas cascatas e cursos d'água na sua borda e encostas. A maior parte do Parque é representada pelo cerrado sentido restrito. No alto da serra predomina o cerrado típico e em locais com afloramentos rochosos, campo rupestre. Na área ocorrem também veredas e alguns trechos com campo limpo. Alguns cursos d'água permanentes são margeados por mata de galeria (Almeida e Sarmiento 1998).

Neste local, coletamos os dados em áreas de platô com afloramentos rochosos e cobertas por vegetação predominantemente aberta. Concentramos as atividades de campo em um curso d'água permanente com água corrente e cascata (Figura 6 acima), em dois regatos sazonais (130–480 m comprimento; 0,9–6 m largura; < 1,5 m profundidade) e em dois canais estreitos de enxurrada (0,3–1 m largura; 0,02–60 cm profundidade) (Figura 6 abaixo). Após chuvas fortes, os regatos apresentam água corrente, porém, depois de 3–5 dias, eles se estabilizam em fluxo de lenta troca, com a formação de poças rasas e isoladas (remansos) de tamanhos e formatos variados. A secagem completa desses corpos d'água decorrente de estiagens prolongadas é comum mesmo na estação chuvosa, principalmente entre Setembro e meados de Novembro. No período do estudo, grandes áreas foram queimadas devido à incidência de fogo na estação seca.



Figura 6. Tipos principais de cursos d'água corrente (lótico) encontrados no interior do Parque. **Acima:** Riacho rochoso permanente com fluxo forte e cachoeiras, onde encontramos adultos e girinos de *Leptodactylus sypax*; **Abaixo:** regatos sazonais ou canais de enxurrada presentes em áreas de platô. Caldas Novas (GO).

Espécies-modelo

As espécies do gênero *Leptodactylus* (Leptodactylidae) parecem compor um grupo monofilético (Ponssa 2008) e têm sido distribuídas em cinco grupos distintos com base em caracteres moleculares, morfológicos e comportamentais (e.g., grupos de *L. fuscus*, de *L. melanonotus*, de *L. ocellatus*) (Heyer 1969a, 1978, 1979; Ponssa 2008). Presentemente, o grupo de *Leptodactylus pentadactylus* (sensu Heyer 1979, 2005) inclui 19 espécies de tamanho corporal moderado ou grande [entre 70–160 mm de comprimento rostro-cloacal (CRC)]. Possíveis sinapomorfias (morfológicas) do grupo foram sugeridas recentemente (Ponssa 2008) e algumas hipóteses sobre a relação filogenética entre seus membros também têm sido propostas com base em dados moleculares e morfológicos (Heyer 1979; Maxson e Heyer 1988; Larson e de Sá 1998; Ponssa 2008). Na presente tese, exploramos duas espécies-chave do grupo de *Leptodactylus pentadactylus* (*L. labyrinthicus* e *L. syphax*) como organismos modelo em questões sobre comportamento, ecologia e evolução.

No Brasil, ambas as espécies ocorrem em áreas de Cerrado, principalmente nas regiões central e sudeste, com vegetação predominantemente aberta (Heyer 1979; Eterovick e Sazima 2000; Frost 2007; obs. pess.). *Leptodactylus labyrinthicus* (rã-pimenta) possui grande tamanho corporal (ca. 140 mm CRC) (Figura 7 acima) e sua biologia reprodutiva é bem conhecida (Shepard e Caldwell 2005; Silva et al. 2005; Zina e Haddad 2005). O ninho de espuma (desova) da espécie é construído dentro de bacias escavadas pelos adultos às margens de corpos d'água temporários ou permanentes (lêntico) localizados em áreas brejosas (veredas) ou alteradas por atividades humanas. Nas suas desovas (média=2100 ovos), a maioria dos ovos (ca. 90%) não se desenvolve e serve de alimento para os girinos, os quais crescem inicialmente no ninho, porém completam o desenvolvimento larval no corpo d'água adjacente. Girinos pós-ninho (livre-natantes) são predadores de ovos e atacam desovas coespecíficas e de outras espécies de anuros; eles

podem predar também girinos recém-eclodidos e são necrófagos (Shepard e Caldwell 2005; Silva et al. 2005; Silva e Muniz 2005; Zina e Haddad 2005). Outros aspectos relevantes da auto-ecologia da espécie (e.g., oofagia, horário de atividade da fase larval, interações com predadores, mecanismos de produção de ovos tróficos) foram explorados experimentalmente na presente tese.

Leptodactylus syphax possui tamanho corporal moderado (*ca.* 70 mm CRC) (Figura 7 abaixo) e ocorre em ambientes rochosos e com água corrente (lótico). Sua ecologia reprodutiva era praticamente desconhecida antes do presente trabalho e apenas o local de ocorrência, canto de anúncio, morfologia externa do adulto e girino estavam previamente descritos (Cardoso e Heyer 1995; Eterovick e Sazima 2000).



Figura 7. Espécies-modelo da presente tese (machos). **Acima:** *Leptodactylus labyrinthicus* (rã-pimenta) (ca. 140 mm CRC); **Abaixo:** *Leptodactylus syphax* (ca. 70 mm CRC).

Amostragem e análises

Para a coleta de dados, realizamos os trabalhos de campo nos locais de agregação reprodutiva das espécies, principalmente no início da estação chuvosa (Setembro-Novembro). Conduzimos uma visita à Serra do Cipó (Dezembro de 2005) e visitas regulares (1–4 por mês) entre setembro e fevereiro (2004–2008) a Araguari e Caldas Novas. Em Uberlândia, conduzimos visitas semanais ou mesmo diárias em Outubro/Novembro (entre 2004–2007).

Referenciamos os sítios de vocalização com coordenadas GPS para procurar desovas no entorno no dia seguinte. Para a descrição de comportamentos específicos (e.g., amplexo, construção do ninho de espuma), aplicamos a técnica do “animal focal” com “coleta de dados limitada por tempo” para coletar informações sobre a frequência/duração e sequência das expressões de cada categoria comportamental (sensu Martin e Bateson 1986). Comportamentos relativamente raros e sutis (e.g., corte, amplexo) foram procurados por varredura do ambiente de ocorrência da espécie (Martin e Bateson 1986).

Para cada espécie, descrevemos os sítios de oviposição e ambiente/micro-ambiente das larvas, considerando distância e tipo de corpo d’água (e.g., lântico/lótico, temporário/permanente). Para a obtenção de desovas e larvas com identificação segura, acompanhamos casais em amplexo até a postura. Girinos em estágios avançados do desenvolvimento (estágio 40; Gosner 1960) foram coletados e mantidos em laboratório até a metamorfose, sendo alimentados com ovos de anuros (e.g., *Physalaemus cuvieri*), ração para peixes ornamentais ou alface descongelada. Experimentos sobre predação/oofagia na fase larval foram conduzidos nos locais onde as larvas foram coletadas. Referências ao estágio de desenvolvimento dos girinos seguem Gosner (1960).

Análises laboratoriais (e.g., descrições morfológicas, contagem de ovos) foram realizadas no Laboratório de Zoologia (InBio, UFU) com auxílio de estéreo-microscópio,

paquímetros (0,01 mm), balanças e outros equipamentos de precisão. As análises estatísticas foram feitas no programa Systat 10.3 (Wilkinson 1990).

Espécimes adultos foram preparados (montagem/fixação) conforme procedimento padrão, com fixação em formol (10%) e conservação em álcool (70%). Desovas e larvas obtidas em campo ou laboratório foram divididas em lotes e fixadas em formol 5% tamponado. Alguns exemplares (adultos, juvenis e larvas) foram depositados em coleção pública (AAG-UFU), no Museu de Biodiversidade do Cerrado, da Universidade Federal de Uberlândia (AAG-UFU 2287; 2364; 2462; 3112; 3115).

(I) PRIMEIRO CAPÍTULO

**Further notes on the natural history of the South American
pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824)
(Anura, Leptodactylidae)**

RESUMO: Notas complementares sobre a história natural da rã-pimenta sul-americana, *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae). Girinos de *L. labyrinthicus* crescem parcialmente no ninho consumindo ovos tróficos. Testamos a suposição prévia de que esses ovos seriam postos logo após o amplexo. Verificamos se fêmeas liberadas do amplexo ainda portavam óvulos maduros e testamos a capacidade dos girinos em predação girinos heteroespecíficos plenamente desenvolvidos. Conduzimos experimentos com girinos para descrever o horário de atividade, comportamento de refúgio e grau de susceptibilidade à predação pela ave sabiá-poca. Desovas podiam ocorrer antes das primeiras chuvas, possibilitando aos girinos explorar ovos de outros anuros no meio da estação chuvosa. Os ninhos geralmente são circunscritos em bacias escavadas pelos adultos às margens do corpo d'água. Machos adultos foram encontrados durante o dia em buracos subaquáticos, provavelmente escavados por eles. As fêmeas liberam todos os óvulos durante o amplexo, portanto, os ovos tróficos não são produzidos pelo mecanismo previamente suposto. Os girinos oferecidos nos testes não foram consumidos pelos girinos de *L. labyrinthicus*, os quais conseguem predação apenas recém-eclodidos. No campo, os girinos se refugiavam entre o lodo ou folhas mortas durante o dia, porém ficavam expostos sobre o fundo à noite. Dois sabiás-poca removeram folhas de uma poça e predaram girinos. Nos experimentos, os girinos se escondiam entre o cascalho/folhas no período diurno, mas tornavam-se expostos à noite. As aves predaram todos os girinos expostos, mas nenhum girino nos recipientes com cascalho/folhas foi consumido. Portanto, o hábito noturno e a utilização de refúgios diurnos devem proteger os girinos da espécie contra predadores visualmente orientados, como as aves.

PALAVRAS-CHAVE: grupo de *Leptodactylus pentadactylus*, reprodução, abrigos, ovos tróficos, girinos.

Introduction

Several species of *Leptodactylus* of the *L. pentadactylus* group (sensu Heyer 1979, 2005) build their foam nests on land in excavated basins and have oophagous tadpoles (Muedeking and Heyer 1976; Cardoso and Sazima 1977; Hero and Galatti 1990; Hödl 1990; Gascon 1991; Aichinger 1992; Gibson and Buley 2004; Prado et al. 2005; Silva et al. 2005). *Leptodactylus labyrinthicus* tadpoles reach a large size within the nest through consumption of trophic eggs, but complete their metamorphosis in water, where they prey upon anuran eggs and tadpoles or feed on carrion (Cardoso and Sazima 1977; Agostinho et al. 2002; Prado et al. 2005; Shepard and Caldwell 2005; Silva et al. 2005; Silva and Muniz 2005; Zina and Haddad 2005).

Prado et al. (2004) did not find differences in the morphology and staining pattern between ovarian and developing eggs in *L. labyrinthicus*. In a previous study (Silva et al. 2005), we suggested that the trophic eggs of this species are produced by females releasing eggs immediately after the male finished amplexus and left the foam nest. However, herein we present data that do not support this hypothesis. We also present new data on the natural history of this species with regard to seasonality in reproduction, nest building site, diurnal retreats and the ability of the tadpoles in preying upon fully-grown tadpoles of other species. Furthermore, we describe that the tadpoles are mainly nocturnal and take shelter during the day probably to avoid visually-orientated predators.

Methods

We carried out the present study in the Brazilian municipalities of Uberlândia (MG), Araguari (MG), and Caldas Novas (GO). We looked for wintering (June 2003) tadpoles in water bodies (n=3) often used for reproduction through stovepipe (a metal ring of 45 cm height and 56 cm diameter) sampling (Shaffer et al. 1994) and with the aid of a

sieve (3 mm mesh). We examined underwater burrows used by adults by extending an arm into them to determine their shape and estimate their length/diameter. We removed rotting grass and superficial mud from drying ponds (n=3) in winter months to look for buried transformed individuals. A clustering behavior of the tadpoles observed in recently dried pools was described.

To test if females still contained mature eggs just after release from amplexus (Silva et al. 2005), we dissected two of them preserved just after the males had left the foam nests (<30 seconds). The egg-clutch of one of these females was examined five days later in order to determine the proportion of eggs and tadpoles. On another occasion, we kept a just-released (amplexus) nesting female under observation until she left the foam nest.

Because we found large-sized tadpoles in an old aged egg clutch, we suspected that tadpoles could complete metamorphosis within the basin. To test this hypothesis we kept individual one-week-old egg clutches (n=10) in containers (3 L; glass or clay) with 1-2 L of dechlorinated tap water in outdoor experimental conditions. These nests were covered with a fine nylon mesh and kept in a partially-shaded place under ambient temperature (25-29°C) and photoperiod. We checked for tadpole size twice a week for at least three months. The references to larval stages follow Gosner (1960).

Leptodactylus labyrinthicus tadpoles are known to prey newly-hatched tadpoles of *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 (Cardoso and Sazima 1977). We offered *P. cuvieri* (19-27mm TL; stage 25) and *Pseudopaludicola* sp. (17-25mm TL; stage 25) tadpoles to *L. labyrinthicus* tadpoles (47-55 mm; stage 29-36) to test their ability of preying upon fully-grown tadpoles of other species. These prey tadpoles were collected from water bodies where they occur syntopically with *L. labyrinthicus*. We offered one prey for each *L. labyrinthicus* tadpole in circular containers (1 L) with 0.5 L of water (21-23°C). We

conducted 14 replications throughout one night for each prey species. Prior to prey presentation, *L. labyrinthicus* tadpoles were kept unfed for five days.

Field observations and experiments were conducted on tadpole activity time, hiding behaviour and level of susceptibility to predation by free-ranging leaf-scrappers (*Turdus amaurochalinus* Cabanis, 1851, Passeriformes) (Muniz and Silva 2005) in four different sheltering situations. A total of 160 tadpoles (28-43 mm TL; n=3 clutches) was used. We placed groups of 10 tadpoles in white opaque plastic trays (45 x 25 x 8 cm; 3 L water) either without any substrate or with dark-gray gravel and dead leaves (similar to the pools from which they were collected). The first test was to determine the diel pattern of activity and hiding behavior. Two groups of 10 tadpoles were arranged in two trays. In one half of each tray, we placed gravel/leaves, and left the other half without any substrate. Food (a small piece of carrion) was placed on the white-bottomed side of these trays. We took note of the number of tadpoles in each side of the trays during a 24 hours period (1-3 hours intervals).

In a second experiment (80 tadpoles), we assessed the efficiency of gravel/leaves to protect tadpoles from free-ranging leaf-scrappers. We distributed two sets of 10 tadpoles in two trays without any substrate (exposed tadpoles), and two sets in trays with gravel/leaves. In a third experiment (60 tadpoles), we submitted groups of 10 tadpoles to three conditions in three trays: 1) Gravel/leaves, 2) Gravel, and 3) Leaves to determine which of these would provide greater protection against birds. During the tests, we observed the birds' behavior (at least two individuals) with binoculars from about 13m. The exposures to the predator were carried out in the morning (7:00 AM) and afternoon (5:00 PM). In each experiment, the trays with the different sheltering conditions were exposed simultaneously in the field for 30 minutes.

Results and Discussion

Reproductive activity and oviposition sites

From August/September to February, males called regularly during the night, but on rare occasions (n=4 times; September and November) advertisement calls were heard during sunny hours (10:00AM-1:00PM). In contrast to our new data, previous studies described the calling period of *L. labyrinthicus* as being strictly nocturnal (Silva et al. 2005; Zina and Haddad 2005).

In 2004, rains started in mid-October, but calling activity and egg clutches (n=6) occurred from early September. The long time (up to 25 days) the tadpoles can remain in the nest on their trophic egg-based diet (Prado et al. 2005; Silva et al. 2005) may favor those individuals reproducing before the first rains, because their tadpoles can exploit the eggs of other frog species (e.g., *Physalaemus* spp.) laid just after the first heavy rains (personal observation).

We found one floating egg clutch built amidst a dense tuff of emerging grass-like plants in a small (1.5 m²; 60 cm deep) temporary pool. The foam nest of the species is normally circumscribed in an excavated basin beside the water body (Figure 8) (Silva et al. 2005; Zina and Haddad 2005). Rarely and alternatively, foam nests were found on dry land (Silva et al. 2005) and on the top of water (Eterovick and Sazima 2000; present study).

Mid-winter (June) stovepipe sampling produced no *L. labyrinthicus* tadpoles (n=3 water bodies, 15 samples). Regarding the possible protection the basin may offer to eggs/early tadpoles against cannibal tadpoles (Silva et al. 2005), deposition of the foam nest directly on the water at the beginning of the reproductive season would not bring greater risks from conspecifics, as tadpoles of this species do not overwinter.



Figure 8. A foam nest (egg clutch) (above) and an empty basin (below) of *Leptodactylus labyrinthicus*. Note that the foam nest is not in contact with the main water body. Observations made at Uberlândia (MG).

Retreats

Adult males (n=5) were found with their head out of the entrance of water-filled burrows during the day. These burrows were perforations through dense root mats beside (30-250 cm distance) calling/spawning sites. Males often took refuge diving into these burrows when observers approached (*ca.* 4 m; n=5 occasions). Underwater burrows (n=5) had a diameter of around 120 mm and were about 30-80 cm in length (up to 50cm under water). They were either directed straight towards the bottom (n=2) or curved parallel to the surface (n=3). We recovered individual males from these burrows when extending an arm into them. Three burrows examined in the winter months were not occupied. Tozetti and Toledo (2005) described burrow utilization by both adult males and females *L. labyrinthicus* and suggested that such burrows are constructed by mammals. We agree that those burrows far from the water could be dug by mammals, but suggest that those in swamps (highly humid soil) may have been actively excavated by males. Probably, males establish territories around proper egg-laying sites and use these burrows as diurnal shelters and escape retreats during the reproductive season. Eterovick and Sazima (2004) also referred to the species as using “cavities in swampy areas”. Males of *L. flavopictus* Lutz, 1926, another species of the *L. pentadactylus* group (Heyer 1979), appear to have this burrowing behaviour as well (Bokermann 1957).

In August (dry season 2003), after removing the dry grasses and superficial (< 10 cm) mud of a drying pool (6 m²), we found three buried juveniles (61-69 mm SVL). All were responsive (not dormant) to manipulation. Compact aggregates (n=3) of living tadpoles (up to 37 individuals; 35-60 mm TL) were found hidden in crevices in soil or under garbage (pieces of clothing and plastic bags) 1-2 days after the ponds had dried out (Figure 9).



Figure 9. A clutch of survival tadpoles of *Leptodactylus labyrinthicus* found in a complete dried pool after two days. Observations made at Uberlândia (MG).

Trophic egg production

Both females collected immediately after being released from amplexus did not bear any mature egg (oocytes) in their ovaries or oviducts. After five days in the field, the egg clutch of one of these females had 111 (5.2%) tadpoles and 2,035 trophic eggs. The female observed after being released from the amplexus remained motionless within the foam nest for 17 minutes before leaving it. Therefore, *L. labyrinthicus* females release all their eggs during the amplexus and the trophic eggs are not produced by a behavioural mechanism as we previously suggested (Silva et al. 2005). More detailed studies on late gametogenesis of the species (Prado et al. 2004) may point to structural differences between trophic and developing eggs. Females of *L. fallax* Muller, 1926 (*L. pentadactylus* species group) periodically release unfertilized (trophic) eggs to feed their tadpoles (Gibson and Buley 2004). This mechanism does not apply to *L. labyrinthicus*, since in our study area females of this species do not remain or periodically return to their foam nest after mating to lay fresh eggs.

Tadpole development and behaviour

From one of the 10 clutches kept in the laboratory with no food supply other than the original trophic eggs, two tadpoles reached metamorphosis within 54 days (17-19 mm SVL) feeding on trophic eggs and cannibalizing dead siblings. In a second clutch, a tadpole almost reached metamorphosis (60 mm TL; stage 40) after 40 days. In the remaining clutches (n = 8), tadpoles died after 1-3 months, the siblings not differing notably in size (< 45 mm TL) after this time. In September 2003, we followed (for 20 days) a clutch isolated from the main water body, which produced three large sized tadpoles (largest= 50.0 mm TL, stage 27); at that age time 1120 trophic eggs remained. Prado et al. (2005) also succeeded in having one tadpole metamorphosing in laboratory conditions similar to our

results. *Leptodactylus labyrinthicus* tadpoles are opportunistic cannibals (sensu Crump 1983, 1986), just eating already dead siblings.

In the laboratory, fully-grown tadpoles of *P. cuvieri* and *Pseudopaludicola* sp. were not preyed upon by *L. labyrinthicus* tadpoles. An important issue in reports on heterospecific tadpole predation by *Leptodactylus* species of the *L. pentadactylus* group is that tadpole consumption is restricted to slow-moving newly hatched preys (Heyer et al. 1975; Cardoso and Sazima 1977; present study).

Diel pattern of activity and hiding behavior

Living *L. labyrinthicus* tadpoles are cryptic colored, with a dark gray back and tail. In the field, they normally took shelter under dead leaves or debris during daylight and became exposed on the bottom at night. Tadpoles were seen swarming under foam nests of other leptodactyline frogs (e.g., *Physalaemus* spp.) during the day (n=5 observations). In our first experiment, tadpoles sheltered under gravel/leaves during daylight (7:00 AM-6:00 PM), but they were exposed around the carrion at night, mainly between 7:00 and 11:00 PM (n=38 inspections) (Figure 10). Tadpoles often took shelter when illuminated by flashlights (n=6 times).

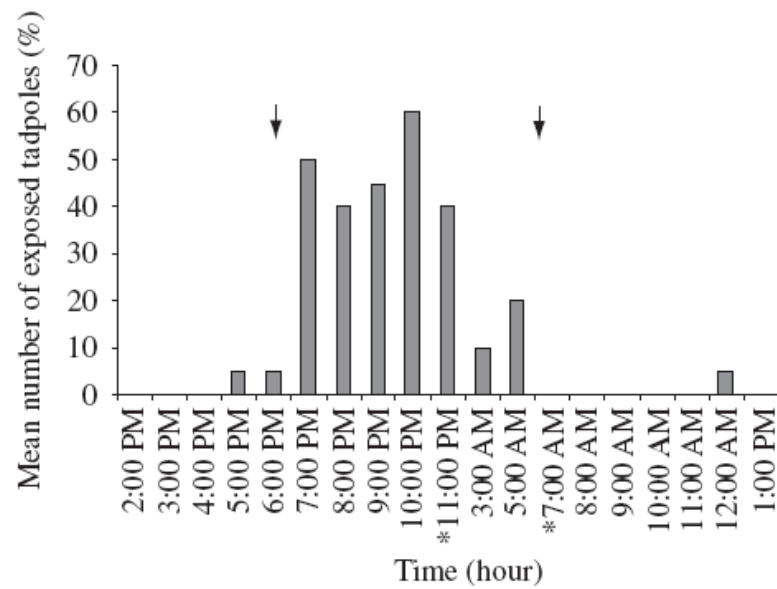


Figure 10. Diel activity pattern of *Leptodactylus labyrinthicus* tadpoles (n=20 individuals; 38 visual inspections). The left and right arrows indicate sunset (6:30PM) and sunrise (6:30AM), respectively. * – No inspections were made between 24–2, 4, or 6h.

In the field, free-ranging leaf-scrappers were observed removing dead leaves from the bottom of a shallow pool with their beaks and preying upon tadpoles ($n=10$; *ca.* 40 mm TL). The leaf-scrappers attempted to prey upon tadpoles in all experimental trays. The birds turned several leaves (*ca.* 35) of trays with gravels/leaves. In the second experiment, leaf-scrappers ate all exposed tadpoles, but no tadpole of the gravel/leaves trays was consumed. In the third experiment, tadpoles in gravel (90%) and gravel/leaves (15%) trays were consumed. No tadpole was captured from the trays containing just leaves.

Unpalatability is a main defense of anuran larvae against predaceous teleosts (e.g., Hero et al. 2001). We have no evidence of unpalatability of *L. labyrinthicus* tadpoles to snakes and birds (Muniz and Silva 2005; present study). The use of diurnal shelters (mud/leaf litter) and nocturnal habits may protect tadpoles from visual predators, such as the leaf-scrappers. As in other systems (review: Kronfeld-Schor and Dayan 2003), these differential diel activity patterns may allow predator/prey coexistence. The kind of microhabitat used influences predation risks by determining the level of exposure of tadpoles to predators (Morin 1986). In our experiments, the leaves (and combined gravel/leaves) appear to provide protection to tadpoles against birds by making detection and capture difficult. Besides *L. labyrinthicus*, tadpoles of other species use leaf litter as microhabitat refugia (Morin 1986; Semlitsch and Reyer 1992; Hero et al. 2001).

(II) SEGUNDO CAPÍTULO

**On the natural history of *Leptodactylus siphax* with comments
on the evolution of reproductive features in the *L. pentadactylus*
species group (Anura, Leptodactylidae)**

RESUMO: História natural de *Leptodactylus siphax* com comentários sobre a evolução de caracteres reprodutivos no grupo de *L. pentadactylus* (Anura, Leptodactylidae).

Neste capítulo, descrevemos a reprodução de *Leptodactylus siphax* e apresentamos hipóteses sobre a evolução de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos no grupo de *L. pentadactylus*. Para isso, determinamos o micro-ambiente de desova e a proporção de ovos/embriões em ninhos recém-postos. Descrevemos também o comportamento de formação do ninho de espuma. Testamos experimentalmente se girinos pós-ninho de *L. labyrinthicus* e *L. siphax* conseguem predar ovos embebidos em ninhos de espuma heteroespecíficos. As desovas foram encontradas fora da água às margens de regatos rochosos e sazonais, geralmente no interior de bacias escavadas pelos adultos. Os machos batem a espuma com suas pernas/pés executando movimentos laterais similares aos de um limpador de pára-brisas de automóveis. As desovas não possuem ovos tróficos, pois a maioria (90%) dos ovos se desenvolve normalmente em girinos. Os girinos conseguem aderir a rochas mesmo em água rasa e corrente. Apenas os girinos de *L. labyrinthicus* conseguem extrair e predar ovos de ninhos de espuma heteroespecíficos. Se o grupo de *L. pentadactylus* é monofilético, bacias escavadas e batimento da espuma em movimentos laterais podem ser possíveis sinapomorfias do grupo. No entanto, adultos grandes, girinos carnívoros/oófagos e desovas com ovos tróficos parecem representar sinapomorfias correlatas (evolução associada) de um subgrupo restrito. *Leptodactylus siphax* e outras três espécies associadas a habitats rochosos e lóticos provavelmente formam outro possível subgrupo monofilético no grupo de *L. pentadactylus*, pois seus girinos apresentam especializações morfológicas e/ou comportamentais para água rasa e corrente.

PALAVRAS-CHAVE: América do Sul, bacias escavadas, ovos tróficos, girinos carnívoros/oófagos, girinos lóticos.

Introduction

Neotropical frogs of the genus *Leptodactylus* (Leptodactylidae) seem to form a monophyletic group (Ponssa 2008) and have been divided into five species groups based on morphology and behaviour (Heyer 1969a, 1978, 1979; Ponssa 2008). Currently, the *Leptodactylus pentadactylus* group (sensu Heyer 1979, 2005) includes 19 mid- to large-sized [(about 70–160 mm snout-vent length (SVL)] species. Morphological synapomorphies supporting this group have been reported (Ponssa 2008), and some internal phylogenetic resolution among its members has also been proposed (Heyer 1979; Maxson and Heyer 1988; Larson and de Sá 1998; Ponssa 2008).

Within the *L. pentadactylus* species group at least two reproductive modes are recognized (Prado et al. 2002). Foam nests of *L. fallax* Müller, 1926 are built in burrows or cavities not associated with water bodies; the female protects the nest and periodically feeds her tadpoles with trophic (unfertilized) eggs until they complete their larval development (Lescure and Letellier 1983; Kaiser 1994; Davis et al. 2000; Gibson and Buley 2004). Egg clutches of *L. pentadactylus* (Laurenti, 1768) are also deposited in excavated burrows far from water and the tadpoles develop entirely in the nest, but maternal care has not been reported for this species (Hero and Galatti 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Lima et al. 2006).

Leptodactylus labyrinthicus (Spix, 1824) illustrates the second mode in which foam nests are built in shallow basins dug by the adults close to water bodies and there is no care. Tadpoles initially grow in the nest through consumption of trophic (undeveloped/unfertilized?) eggs, but complete their development in the water (Prado et al. 2005; Shepard and Caldwell 2005; Silva et al. 2005; Zina and Haddad 2005; Silva and Giaretta 2008a). Post-nestling, free-swimming tadpoles prey upon heterospecific hatchlings and anuran eggs, even those embedded in heterospecific foam nests, a behaviour

probably related to their carnivorous morphology (e.g., long muscular tail, anterior mouth) (Heyer 1979; Silva et al. 2005; Silva and Giaretta 2008a). Foam nests in excavated basins beside the water and aquatic tadpoles are also known in *L. knudseni* Heyer, 1972, *L. savagei*, *L. turimiquensis* Heyer, 2005, and *L. vastus* A. Lutz, 1930. Trophic eggs have not been reported for all these species, but it is known that tadpoles of *L. knudseni* and *L. savagei* are oophagous and eat eggs in their own nests (Rivero and Esteves 1969; Muedeking and Heyer 1976; Hero and Galatti 1990; Gascon 1991; Hödl 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Lima et al. 2006; Vieira et al. 2007).

Leptodactylus syphax Bokermann, 1969 is found in open rocky fields from Brazil, Bolivia, and Paraguay (Heyer 1979; Frost 2007; Giaretta et al. 2008). Its advertisement call is known (Cardoso and Heyer 1995; Silva et al. 2008) and reciprocation calls produced by females have also been reported (Silva et al. 2008). The tadpoles have a generalized exotrophic-benthic morphology (sensu Altig and Johnston 1989) and develop in seasonal or permanent rocky streams (Eterovick and Sazima 2000). The species is thought to lay eggs in floating foam nests (Eterovick and Sazima 2000). Along with *L. syphax*, those other species associated with rocky and lotic habitats (*L. lithonaetes*, *L. myersi* Heyer 1995, *L. rugosus* Noble, 1923) may form a monophyletic subgroup (Heyer 1979, 1995), but details on the breeding behaviour that could help to support this hypothesis are not available for any of these species.

In this paper we present details on the natural history, with special attention given to the reproduction, of *L. syphax* from three localities in Central and Southeastern Brazil. We describe details of its habitat, reproductive mode, breeding season, foam nest construction behaviour, proportion of fertilized eggs in the clutches, tadpole foam-making behaviour, and mortality sources of eggs and tadpoles. The ability of *L. labyrinthicus* and *L. syphax* tadpoles to feed on eggs from heterospecific foam nests was compared

experimentally. We also address the evolution of reproductive features within the whole *L. pentadactylus* species group such as basin building behaviour, lotic tadpoles, tadpole carnivory and trophic eggs.

Methods

We carried out the present study in three areas: the steep banks of the Paranaíba River valley, Araguari (MG); Serra do Cipó, Santana do Riacho (MG); and Parque Estadual da Serra de Caldas, Caldas Novas (GO). All these localities are in the Brazilian Cerrado Biome, mainly in hills with steep terrain and rocky grasslands with scattered scrubs/small trees and areas covered by narrow forests along permanent or seasonal streams (Oliveira and Marquis 2002; Eterovick and Sazima 2004).

We visited the Serra do Cipó once (December 2005) and conducted regular visits (1–4 per month) between September and February (2004–2007) to Araguari and Caldas Novas. Most of the regularly gathered data were collected along four seasonal rocky streams (130–480 m length; <6 m width) and in a swampy gravel patch (15,000 m²) drained by two narrow seasonal creeks (30–80 cm width; <40 cm deep). Calling males were referenced using a global positioning satellite system during the evening and foam nests were sought around these sites.

Males and females were compared in relation to their body size (SVL), weight, forearm diameter, and presence/absence of nuptial spines. Differences between averages were evaluated through t-tests and, within a sex, the relationship between SVL and forearm diameter, through a Pearson correlation test (Zar 1999). Adult status was determined based on male calling behaviour and on the smallest female bearing oviducal eggs. Sizes were measured with calipers (0.02 mm) and weight was measured with a Pesola spring.

We described egg-laying and foam-beating behaviour by focally observing an amplexant pair. To determine if *L. syphax* had trophic eggs, we quantified the proportion of early-stage tadpoles (<13 mm total length; stage 19) in clutches preserved (in 10% formalin) 4–5 days after deposition; these clutches were protected with fine (1 mm) mesh to avoid egg death/consumption by predatory fly maggots (*cf.* Menin and Giaretta 2003). Around the fifth day the tadpoles still had incomplete mouthparts and the guts were full of yolk, so they could not have ingested conspecific eggs at this stage. To test whether nestling tadpoles could generate foam on their own (as described for *L. labyrinthicus*; Kokubum and Giaretta 2005), two groups of 100 individuals [<15 mm total length (TL); stage 21; n=2 nests) were carefully washed to remove the parental foam and then transferred to moist plastic tubes (25 ml) for 4 h. These tests were conducted in the shade, under natural conditions of illumination and temperature (29 °C), and were considered positive if the tadpoles produced enough foam to freely swim around. Tadpoles were staged following Gosner (1960).

To determine if post-nestling/free-swimming tadpoles of *L. labyrinthicus* and *L. syphax* could remove and prey on eggs embedded in heterospecific foam nests, we provided them with either eggs removed from the foam or whole nests of *Eupemphix nattereri* Steindachner, 1863 (Anura, Leiuperidae). In the first experiment, 20 eggs (1.6 mm diameter) were offered to ten groups of three tadpoles in plastic containers (2 l), each filled with one litre of water (23 °C) and covered by a fine mesh. In the second, one nest was given to each group of three tadpoles in containers with different depths of water: either shallow (12 mm deep), where the bottom could be used as a support to enter the foam or deep (95 mm), where the nests floated far from the bottom. Five replications were conducted for each condition and species. The tadpoles were preserved (5% formalin) after the second test for laboratory gut content analysis. We carried out both tests at night for 2

h. The same tadpoles of *L. sypfax* (23–41 mm TL; stage 25–39; n=30) and of *L. labyrinthicus* (30–42 mm; 25–31; n=30) were used in both experiments, but they were starved for 3 days before each test. We also analyzed the gut contents of *L. sypfax* tadpoles (n=29) found in two ponds with nests of *E. nattereri*.

Two snakes found in *L. sypfax* nests were preserved (in 10% formalin) for gut content analysis. Flies (Diptera) visiting foam nests were preserved (70% alcohol) for identification; maggots removed from preserved nests were counted. The size (SVL) of newly-metamorphosed froglets was determined based on late-stage tadpoles (stage 40–42) collected in the field and then kept in the laboratory (in shade, 29 °C) until metamorphosis.

Results

The body size (SVL) of males (mean=71.7 mm; SD=5.8; range=58.7–82; n=15) did not significantly differ (t-test=1.51; df=23; P=0.14) from that of females (mean=74.7 mm; SD=3.2; range=69.5–79.5; n=10). The mass of males (mean=43.6 g; SD=11.4; range=20–55; n=7) and females (51 g; SD=8.2; range=40–60; n=5) did not differ (t-test=1.23; df=10; P=0.24) either. The forearms of males (mean=12.6 mm diameter; SD=2.6; range=7.0–16.5; n=15) were hypertrophied compared to those of females (mean=6.2 mm; SD=0.72; range=5.1–7.6; n=10), the difference being statistically significant (t-test=-7.48; df=23; P<0.001). Among males there was a positive correlation between SVL and forearm diameter (r=0.69; df=13; P=0.004; n=15), but among females this relationship was not significant (r=0.02; df=8; P=0.95; n=10). Males had 1–2 black sharp spines on each thumb and one tricuspid black spine on each side of the chest. Newly-metamorphosed froglets averaged 16 mm in SVL (SD=1.7; range=14.6–17.8; n=4).

The reproductive activity (vocalization/spawning) started before (up to 20 days) the first rains of September and the latest foam nest was found in late December (n=4 years).

The males called exposed on the ground (n=7) or in rock crevices (n=19) along streams or rivulets, about 0–30 m from the water. Vocalization normally started 1–2 h before sundown (18:30 h) and could extend beyond sunrise (6:30 h). Distances between neighbouring calling males generally ranged 5–50 m (n=25). Calling and spawning mainly occurred along seasonal streams in rocky hills (steep terrain). In the wet season, these water bodies flow intermittently and stagnant shallow bed-pools (6–120 cm deep) occupied by tadpoles often dried up because of droughts (up to 35 days without rain). Some tadpoles (n=20) were also found in permanent streams (Caldas Novas). Egg-laying sites were mainly covered by open grass-like vegetation (n=30 nests) or shaded by short (<4 m tall) scrubs and trees (n=14 nests). The nests were deposited amidst grasses (<90 cm height) (n=22), completely hidden under leaf-litter (n=15), in rock crevices (n=8) or directly exposed to sun (n=7). Foam nests were often found around calling sites (0–150 cm distance; n=10). Distances between neighbouring nests averaged 2.5 m (SD=1.9; range=0–7; n=15).

The basins/foam nests were always isolated, but close to main water bodies (mean=74; SD=82; range=3.5–280 cm distance; n=35) (Figure 11 above); egg clutches (n=22) from the beginning of the rainy season were often placed in sites where there would be running water later in the season. More often, egg clutches were circumscribed in excavated basins (n=29), but they could be anchored in spaces between stones as well (n=23). In swampy gravel patches, the basins had well defined rims (n=22) (Figure 11 below), but in rocky outcrops they could have just a discrete border of mud or no rim at all. Well-defined basins (n=14) were almost circular and averaged 144 mm (SD=24; range=99–190) across their longest diameter (shortest diameter=117 mm; SD=15; range=86–134) and 47 mm (SD=10; range=30–74) in depth; the water on the bottom was usually about 40 mm deep. The longest diameter of the foam nests (n=11) averaged 167

mm (SD= 47; range=126–280) (shortest diameter=113 mm; SD=5; range=106–121) and they were 60 mm (SD=20; range=41–105) in height; fresh nests (<5 days) weighed 144 g (SD=49; range=95–240; n=8).



Figure 11. A foam nest (egg clutch) (above) and an empty basin (below) of *Leptodactylus siphax*. Note that the foam nest is not in contact with the main water body. Observations made at Caldas Novas (GO).

We found a couple in axillary amplexus (2:30 h) within a basin (Figure 12). During egg release/foam-beating (beyond 6:00 h, already light), the pair turned completely around following the outline of the basin, alternating periods of foam beating and resting. When the female bent her body by raising her cloacae above the foam level, the male beat her cloacal fluids with both legs (shank, feet) moving from side to side, similar to “windscreen wiper actions”. Each complete turn (360° ; clockwise or anti-clockwise directions) lasted 5.5 minutes (SD=2.3; range=4–11; n=9 measurements) with 9–11 events of egg release/foam-beating. The foam-beating events averaged 3.7 seconds (SD=0.6; range=2.1–4.6; n=30 measurements) and the rests between them 72 s (SD=142; range=1.5–900; n=30). This pair left the nest at 14:00 h.



Figure 12. An amplexant pair of *Leptodactylus siphax* building a foam nest; male 72.7 mm snout-vent length (SVL) and female 74.3 mm SVL. Caldas Novas, Goiás.

The clutches averaged 513 (SD=134; range=320–732; n=10) eggs, which were yellow and had the yolk portion averaging 2.8 mm in diameter (SD=0.3; range=2.3–3.4; n=20 eggs/4 nests); jelly capsules were not evident. All the eggs were embedded in white foam. Hatching occurred within 3–4 days (n=6 nests) and newly-hatched tadpoles were yellow and averaged 10.2 mm in total length (SD=0.44; range=9.5–10.9; stage 19–20; n=15). Most of the eggs developed into tadpoles (mean=91%; SD=6.7; range=76–98; n=13 nests). While in the nest (10–25 days), tadpoles reached 16.4 mm in maximum total length (SD=1.0; range=14.4–18; stage 25; n=46 tadpoles/6 nests) when they had completely exhausted their yolk reserves. In both tested groups nestling tadpoles (stage 21) produced their own foam by swimming to the foam surface and releasing bubbles through their mouths.

Drought was a cause of mortality for egg-clutches (n=5). Nests were often infested by predatory maggots of *Beckeriella niger* (Williston, 1897) (Diptera, Ephydriidae) (mean=433 maggots/nest; SD=314; range=84–883; n=5 nests); adult flies visited nests during daylight. In one site *L. labyrinthicus* was reproducing syntopically with *L. syphax*; their tadpoles (22–43 mm TL; stage 25–29; n=20) invaded *L. syphax* nests (n=3) and preyed upon eggs (2–18) swallowing each one whole. Snakes (*Liophis poecilogyrus* (Wied, 1825); Serpentes: Colubridae) were found in foam nests (n=3) during daytime four times. Two snakes were analyzed and had nestling tadpoles (n=5 and n=13; 12 mm TL) in the gut. After stronger rain showers, some clutches were dislodged down stream and broken up by torrents (n=6).

The tadpoles entered the adjacent water bodies when heavy rains flooded the nests (normally up to 12 days after oviposition). Tadpoles settled in both running water and in stagnant shallow pools along stream beds. They were benthic and could cling to rocks in flowing water by using their mouths and by flattening their bodies; often they were also

found in very shallow (4–17 mm deep; n=15) waters (Figure 13). Tadpoles (n=6) could even move to other nearby (30 cm) pools by crossing wet pathways (water-free) using powerful tail movements. They were active during the day and at night and continuously scraped the substrate; when approached by humans (<1 m distance) they became quiet or dived deeper, taking shelter beneath stones/dead leaves. Tadpoles (n=128) often died because of droughts. They reached 41 mm in total length before metamorphosis (SD=2.7; range=31.4–44.3; stage 39–40; n=23).

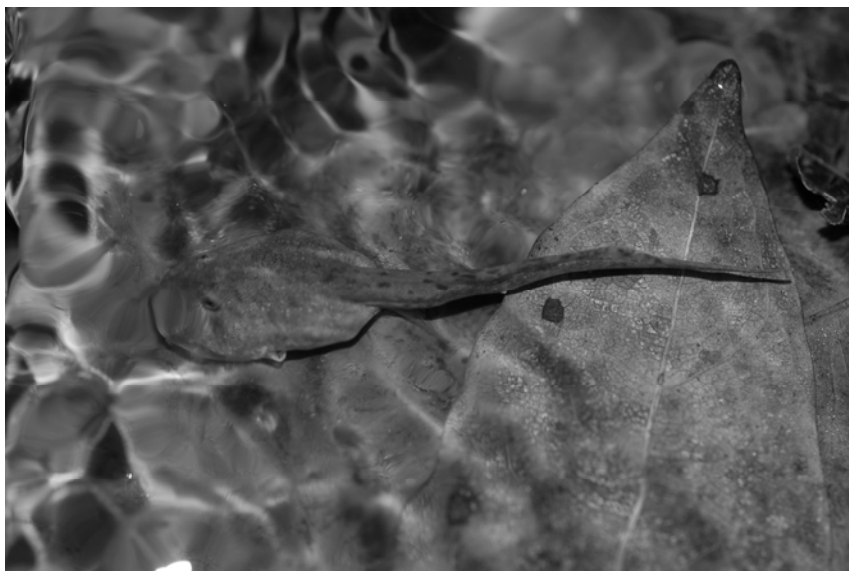


Figure 13. Tadpoles of *Leptodactylus siphax* could cling to smooth rocks even in shallow and fast-flowing waters by using their large mouths and by flattening their body. A seasonal rocky stream in Araguari (MG).

In the experiments, individual eggs of *E. nattereri* were ingested whole by tadpoles of both *L. syphax* (76%) and *L. labyrinthicus* (100% eggs). However, only the tadpoles of *L. labyrinthicus* were able to remove eggs embedded in *E. nattereri* foam nests (shallow condition: 4–26 eggs, deep: 9–36); these tadpoles penetrated the foam by strongly moving their long muscular tails. Tadpoles of *L. syphax* (18–44 mm TL; stage 25–40; n=29) collected in nature in ponds with *E. nattereri* foam nests had no egg in their guts.

Discussion

The body sizes (SVL) of the male and female *L. syphax* studied were similar to those previously reported (Heyer 1979) and, as in other well-known species of the group (e.g., *L. labyrinthicus*; Silva et al. 2005), there was no sexual dimorphism in size. Among frogs, the absence of sexual dimorphism in body size, hypertrophied arms and presence of thumb/chest spines in males are probably related to male $\times$ male agonistic interactions (Shine 1979), as demonstrated for other species of the *L. pentadactylus* group (e.g., *L. fallax*, *L. labyrinthicus*, and *L. turimiquensis*) (Rivero and Esteves 1969; Gibson and Buley 2004; Silva et al. 2005). Cardoso and Heyer (1995) presented further evidence (e.g., foot-pounding) of territorial behaviours of *L. syphax*.

The monophyletic status and phylogenetic relationship among species of the *L. pentadactylus* group is still poorly resolved (Heyer 1979, 2005), but morphological synapomorphies supporting this and nested subgroups have been reported (Ponssa 2008). The knowledge of breeding behaviour of most of its members is scanty and fragmentary; nevertheless, considering the available data we believe that it is possible to erect a hypothesis on the evolution of some reproductive traits within the group, mainly based on the current phylogenies, on two key-species (*L. labyrinthicus* and *L. syphax*), and on all pertinent literature.

The foam-making ability of nestling *L. syphax* tadpoles corroborates the hypothesis (Kokubum and Giaretta 2005) that this behaviour is widespread among the species of the *L. pentadactylus* group and may even represent a derived trait of a more inclusive clade, which would include even species of the *L. fuscus* group (Figure 14: a) (Downie 1984; Caldwell and Lopez 1989; Giaretta and Kokubum 2004), including the former *Adenomera* (Kokubum and Giaretta 2005).

The nests of *L. syphax* are built beside water bodies (not on the top of water as previously reported), usually in basins (probably dug by the adults), as occurs in *L. knudseni*, *L. labyrinthicus*, *L. rhodomystax* Boulenger, 1883, *L. savagei*, *L. turimiquensis*, and *L. vastus* (Rivero and Esteves 1969; Muedeking and Heyer 1976; Hero and Galatti 1990; Hödl 1990; Aichinger 1992; Silva et al. 2005; Lima et al. 2006; Vieira et al. 2007). Nests of *L. fallax* and *L. pentadactylus* are also deposited in burrows, but away from water (Lescure and Letellier 1983; Kaiser 1994; Hero and Galatti 1990; Lima et al. 2006). Basins have been also reported for some species of the *L. melanonotus* group (e.g., *L. podicipinus* (Cope, 1862), and *L. petersii* (Steindachner, 1864); Prado et al. 2002; Lima et al. 2006); however, we suggest that this basin building behaviour arose independently from that observed in species of *L. pentadactylus* group because the *L. pentadactylus* group is more closely related to the *L. fuscus* group (Larson and de Sá 1998; Ponssa 2008), whose species lay eggs in underground dug chambers (Giaretta and Kokubum 2004), and it is not a widely spread behaviour among *Leptodactylus* species in which the female parent is the carer (e.g., absent in species of the *L. ocellatus* group). Besides, basin excavation in species of the *L. melanonotus* group is performed by the male (Lima et al. 2006), whereas in the *L. pentadactylus* cluster it is performed by the male and female (Prado et al. 2002; Silva et al. 2005). Consequently, if the *L. pentadactylus* species group is monophyletic, we suggest

that excavated basins, as here described, may represent a possible synapomorphy of this group (Figure 14: 1).

Males of *L. syphax* beat the foam with their legs moving from side to side just like “windscreen wiper actions” (see Heyer and Rand 1977 for a scheme to *L. savagei*), as described for *L. fallax*, *L. labyrinthicus*, *L. savagei*, and *L. turimiquensis* (Rivero and Esteves 1969; Heyer and Rand 1977; Gibson and Buley 2004; Silva et al. 2005). This pattern of foam-beating may be another shared derived feature of the whole group (Figure 14: 2), because this behaviour is different in species of the closely related *L. fuscus* group (e.g., *L. fuscus* (Schneider 1799); Oliveira-Filho et al. 2005). However, it is difficult to ascertain this hypothesis, because the foam nest construction behaviour is unknown for any species of the *L. melanonotus* and *L. ocellatus* groups.

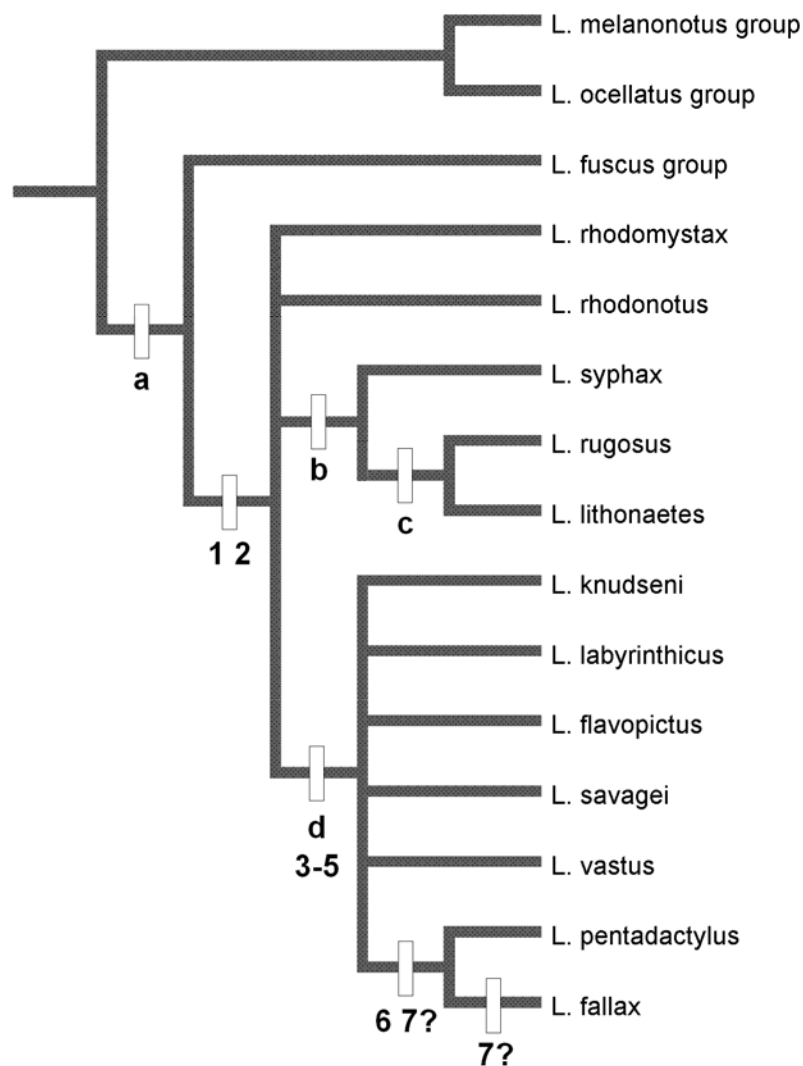


Figure 14. A hypothesis on the distribution of major reproductive features for selected species of the *Leptodactylus pentadactylus* group (sensu Heyer 1979, 2005). This composed topology (phylogeny) is based on the literature (Heyer 1979; Maxson and Heyer 1988; Heyer 1995; Larson and de Sá 1998; Ponssa 2008). Features are represented by letters (literature hypotheses) or numbers (our hypotheses; see Discussion): **a**= nestling tadpoles can make foam; **b**= association with rocky/lotic habitats, large mouthed tadpoles; **c**= semiterrestrial tadpoles with depressed bodies and shallow tailed fins; **d**= carnivorous tadpoles (long muscular tail, frontal mouth); **1**= excavated basins; **2**= male foam-beating like “windscreen wiper actions”; **3**= trophic eggs and nest oophagy; **4**= post-nestling predatory tadpoles (e.g., ability of taking eggs from heterospecific foam nests); **5**= large adults; **6**= total tadpole development within the nest; **7**= maternal care.

Leptodactylus syphax tadpoles are thought to have a generalized pond/exotrophic-benthic morphology (Eterovick and Sazima 2000), but their proportionally large mouth can be interpreted as evidence of their specialization to running waters (sensu Altig and Johnston 1989). Moreover, when settled in flowing water, the tadpoles effectively perform body flattening, cling against the current, and they can even crawl out of water. These behaviours may have represented the initial steps towards the evolution of more evident morphological specializations (e.g., flat body, shallow fins) for lotic habitats as those found in tadpoles of other putatively close related species of the *L. pentadactylus* group, such as *L. lithonaetes* and *L. rugosus* (Heyer 1995; Heyer and Thompson 2000; Heyer and Heyer 2001). In previous studies, Heyer (1979, 1995) suggested that the species associated with rocky/lotic environments may form a monophyletic subgroup (Figure 14: *b, c*) (for an alternative evaluation, see Eterovick and Sazima 2000).

Leptodactylus fallax and *L. labyrinthicus* produce trophic eggs (Gibson and Buley 2004; Prado et al. 2005; Shepard and Caldwell 2005; Silva et al. 2005; Zina and Haddad 2005). Tadpoles of *L. knudseni* and *L. savagei* eat eggs in their own nests and those of *L. pentadactylus* complete their development in the nest (Muedeking and Heyer 1976; Hero and Galatti 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Lima et al. 2006). Hence it is expected that clutches of these three species may also contain trophic eggs. In *L. syphax*, eggs normally develop into tadpoles, meaning that this species lacks trophic eggs and that this feature may be a derived condition of a more restrictive subgroup within the *L. pentadactylus* group (Figure 14: *3*).

In contrast to the tadpoles of *L. labyrinthicus* (Silva et al. 2005; Giaretta and Facure 2006; present study), *L. syphax* tadpoles cannot remove and prey on eggs embedded in heterospecific foam nests. Tadpoles of *L. syphax* have a relatively generalized morphology (Eterovick and Sazima 2000), but those of *L. labyrinthicus* have a long muscular tail and

their oral disk is anteriorly oriented (see a figure in Rossa-Feres and Nomura 2006). Both these features appear to be related to the carnivorous behaviour of tadpoles of some species of the *L. pentadactylus* group (Heyer et al. 1975; Heyer 1979, 2005) and are probably related to the ability of the *L. labyrinthicus* tadpoles to prey on eggs from heterospecific foam nests.

Morphological and behavioural differences between tadpoles of *L. labyrinthicus* and *L. syphax* support the suggestion of Heyer (1979) that the evolutionary changes within the *L. pentadactylus* species group were particularly expressive at the larval phase (Figure 15). In this species group, tadpoles (1) have a generalized exotrophic-benthic morphology (sensu Altig and Johnston 1989) [(e.g., *L. rhodonotus* (Günther, 1868), *L. rhodomystax*, and *L. syphax*), (2) are semi-terrestrial with shallow-finned tails (e.g., *L. lithonaetes* Heyer, 1995, *L. rugosus* (Noble, 1923), and (3) have a carnivorous morphology (long muscular tail, anteriorly directed mouth) (e.g., *L. fallax*, *L. flavopictus* Lutz, 1926, *L. knudseni*, *L. labyrinthicus*, *L. pentadactylus*, *L. savagei*, and *L. vastus*) (Bokermann 1957; Heyer 1969b; Heyer 1970; Heyer 1979; Hero 1990; Heyer 1995; Davis et al 2000; Eterovick and Sazima 2000; Heyer and Thompson 2000; Heyer and Heyer 2001; Heyer and Heyer 2006; Rodrigues et al. 2007; Vieira et al. 2007).

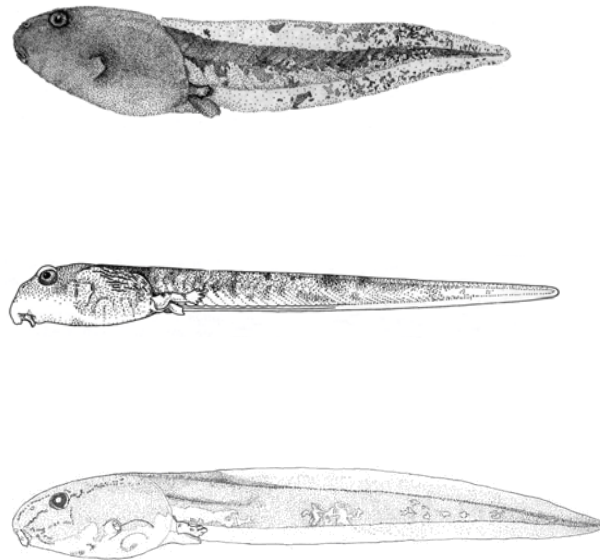


Figure 15. Examples of the three eco-morphological types of tadpoles within the *L. pentadactylus* species group: *L. siphax* (above: exotrophic-benthic type), *L. lithonaetes* (middle: semi-terrestrial) and *L. labyrinthicus* (below: carnivorous). The pictures are not in the same scale and are from literature (Heyer 1995, Eterovick and Sazima 2000, Rossa-Feres and Nomura 2006).

Large adults (>120 mm SVL), tadpoles with long shallow-finned tails (>68 mm TL), frontal mouth, predatory oophagous behaviour, and trophic eggs appear to be derived features that evolved in consonance with one another and that did not arise in the ancestor of the whole group, but at a later cladogenetic event (Figure 14: *d*, 3-5). A comparison among species with known tadpoles gives support to this hypothesis (Table 1). If this is true, a monophyletic subgroup formed by species sharing these traits is expected to be recognized within the *L. pentadactylus* species cluster (see species in set *A* in Table 1). Indeed, some species of this set *A* (*L. labyrinthicus*, *L. knudseni*, *L. pentadactylus*) group together and apart from *L. rhodomystax* and *L. syphax* (Ponssa 2008). Interestingly, *L. fallax* and *L. labyrinthicus* have trophic eggs, a feature also expected to be shared with *L. knudseni*, *L. savagei* (tadpoles eat eggs in their own nests), and *L. pentadactylus* (tadpoles develop entirely in the nest) (set *A* in Table 1) (Muedeking and Heyer 1976; Hero and Galatti 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Gibson and Buley 2004; Silva et al. 2005).

However, the species in set *B* (Table 1) have mid-sized adults (<85 mm SVL), their tadpoles are smaller (<60 mm TL) and lack a carnivorous morphology. Based on the pattern of *L. syphax* and on our hypothesis of evolutionary association of derived features, we predict that other species in this set do not produce trophic eggs, and that their tadpoles are not specialized for predatory oophagy upon heterospecific foam nests. For example, clutches of *L. rhodomystax* have so few eggs (<300; Rodríguez and Duellman 1994; Rodrigues et al. 2007) that they probably do not produce eggs prone to non-development to be used as food by tadpoles that developed from viable eggs.

Table 1. A hypothesis on the evolutionary association of possible derived features within the *Leptodactylus pentadactylus* species cluster (Heyer 1979, 2005). Adult mean snout-vent length (SVL) and tadpole size (maximum total length; stage 36-40) are in millimeters. Carnivorous tadpole refers to morphological traits (long muscular tail and anterior mouth) and states labeled with (*) are predictions (see Discussion). Features of the set *A* may represent synapomorphies supporting a possible monophyletic subgroup.

Species	SVL male-female	Tadpole size	Carnivorous tadpole	Trophic eggs
SET <i>A</i>				
<i>L. fallax</i>	142 - 147	81	present	present
<i>L. labyrinthicus</i>	150 - 142	80	present	present
<i>L. knudseni</i>	132 - 132	69	present	present*
<i>L. savagei</i>	133 - 137	83	present	present*
<i>L. pentadactylus</i>	141 - 154	81	present	present*
<i>L. flavopictus</i>	123 - 130	69	present	present*
<i>L. vastus</i>	156 - 151	?	present	present*
SET <i>B</i>				
<i>L. syphax</i>	70 - 74	44	absent	absent
<i>L. rhodomystax</i>	80 - 76	53	absent	absent*
<i>L. rhodonotus</i>	68 - 75	59	absent	absent*
<i>L. rugosus</i>	60 - 68	41	absent	absent*
<i>L. lithonaetes</i>	70 - ?	36	absent	absent*

The completion by tadpoles of their development in terrestrial nests, as known for *L. fallax* and *L. pentadactylus*, is probably another derived condition (Figure 14: 6). At present, it is unknown whether *L. pentadactylus* females protect the nest and periodically lay unfertilized eggs to feed tadpoles, as do *L. fallax* females (Figure 14: 7) (Hero and Galatti 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Davis et al. 2000; Gibson and Buley 2004). Trophic eggs in *L. labyrinthicus* are undeveloped (or unfertilized?) eggs and are deposited in a single event (Silva et al. 2005; Silva and Giaretta 2008a), but those of *L. fallax* are deposited several times by the mother during larval development (Gibson and Buley 2004), probably representing the most advanced step in trophic egg (and maternal care) evolution within the *L. pentadactylus* group. To derive the reproductive mode of *L. fallax* from one similar to *L. labyrinthicus* would imply that within a reproductive event the first laid eggs contain both fertilized and unfertilized eggs, and subsequent to this event the female remains with her clutch and periodically adds unfertilized eggs to it.

In summary, if the *L. pentadactylus* species cluster (Heyer 1979, 2005) is monophyletic, excavated basins and foam-beating in lateral motions may be possible derived traits that arose in the common ancestor of the whole group. However, large adults, carnivorous/oophagous tadpoles, and trophic eggs appear to be congruent synapomorphies of a less inclusive group. The rocky habitat species may also form a monophyletic subgroup, because their tadpoles exhibit morphological and/or behavioural specializations for running and shallow waters. If our evolutionary hypothesis on the association of derived traits (see Table 1) were confirmed, the major reproductive features (e.g., presence/absence of trophic eggs, tadpole morphology and behaviour) of species of the *L. pentadactylus* group could be inferred largely from the body size (SVL) of adults.

(III) TERCEIRO CAPÍTULO: PARTE I

Seleção de sítios de oviposição em anuros (Lissamphibia)

RESUMO: Seleção de sítios de oviposição em anuros (Lissamphibia). A seleção de sítios de oviposição é uma forma de seleção de hábitat em que as fêmeas escolhem o micro-ambiente de desova procurando maximizar o sucesso reprodutivo individual. Neste capítulo de revisão, compilamos as principais conclusões de estudos publicados sobre seleção de sítios de oviposição tendo os anuros como organismos modelo. Na literatura, podemos reconhecer três linhas principais de investigação: (1) análise de múltiplos fatores em hábitat natural- no ambiente de reprodução, sítios com ovos e girinos são comparados com locais não utilizados com base em fatores abióticos e bióticos com potencial de influenciar a escolha da fêmea; (2) experimentos controlados com poças dispostas em blocos replicados simulando sítios potenciais de oviposição com diferenças na qualidade e (3) quantificações de eventos reprodutivos e experimentos de manipulação em ambiente natural. Fêmeas de várias espécies de anuros selecionam sítios de oviposição mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos. O comportamento de escolha depende da abundância e qualidade relativa dos locais potenciais de desova e da capacidade de discriminação da fêmea. Em geral, as escolhas das fêmeas respondem aos principais riscos à sobrevivência e desempenho da prole, porém apresentam eficiência relativa e perdas parciais ou totais de desovas e girinos são ocasionadas, principalmente, por fatores de mortalidade direta como dessecação e predação. Os mecanismos sensoriais que elas utilizam para discriminar as condições do ambiente de reprodução ainda são praticamente desconhecidos. Além de afetar o sucesso reprodutivo dos parentais, o comportamento de escolha pode influenciar na dinâmica de populações e estrutura de comunidades ao promover a segregação de hábitat entre espécies competidoras ou entre espécies-presa e seus predadores.

PALAVRAS-CHAVE: seleção de hábitat, micro-ambiente de desova, sucesso reprodutivo, efeitos indiretos, métodos de estudo

Introdução

A seleção de hábitat é um processo pelo qual indivíduos escolhem ambientes mais favoráveis à sobrevivência e reprodução (revisão em Morris 2003). A seleção de sítios de oviposição é uma forma de seleção de hábitat em que os parentais, particularmente as fêmeas, escolhem o micro-ambiente de desova. Esse comportamento afeta o sucesso reprodutivo individual porque estabelece as condições de sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e larvas. Portanto, a seleção natural deve favorecer fêmeas capazes de escolher locais de desova que maximizem o sucesso reprodutivo por meio de uma maior taxa de sobrevivência da prole (Bernardo 1996; Resetarits Jr. 1996; Mousseau e Fox 1998).

Os anuros têm sido amplamente utilizados como modelo em estudos sobre seleção de sítios de oviposição (e.g., Skelly 2001; Binckley e Resetarits Jr. 2002, 2003; Murphy 2003ab; Rieger et al. 2004; Rudolf e Rödel 2005; Goldberg et al. 2006; Halloy 2006; Haramura 2008; Lin e Kam 2008). Eles constituem bons modelos nesse tema porque apresentam modos reprodutivos variados, reproduzem-se em habitats diversos, são relativamente conspicuos devido à vocalização, concentram-se em pequenas áreas no período reprodutivo, desovam em locais espacialmente definidos (e.g., poças) e a maioria possui uma fase larval que se desenvolve nas condições definidas pelos adultos (Duellman e Trueb 1994; Murphy 2003a; Marsh e Borrell 2001; Rudolf e Rödel 2005).

Nesta revisão, compilamos as principais conclusões de estudos sobre seleção de sítios de oviposição em anuros (Anura) visando estabelecer comparações e destacar possíveis padrões e mecanismos gerais desse comportamento. Os dados obtidos através desse táxon podem contribuir para o esclarecimento de aspectos ecológicos e evolutivos da seleção de sítios de oviposição (e.g., principais pressões seletivas, efeitos indiretos nas populações e comunidades) e também para a orientação de linhas gerais de futuras pesquisas.

Métodos de estudo

Na literatura, podemos reconhecer três linhas principais de investigação sobre seleção de sítios de oviposição:

(1) Análise de múltiplos fatores em hábitat natural: no ambiente de reprodução da espécie em questão, sítios com ovos e girinos são comparados com sítios não utilizados. Fatores abióticos e bióticos com potencial de influenciar a escolha da fêmea são analisados simultaneamente (e.g., profundidade, propriedades físico-químicas da água, presença e tipo de competidores, predadores). Para inferir se há escolha de locais de postura específicos, os estudos analisam se a distribuição das desovas no ambiente tem associação com alguns desses fatores e se existe preferência ou se determinadas condições são evitadas (e.g., Howard 1978; Seale 1982; Caldwell 1986; Banks e Beebee 1987; Holomuzki 1995; Evans et al. 1996; Kam et al. 1996; Laurila 1998; Mitchell 2002; Dougherty et al. 2005; Ficetola et al. 2006; Goldberg et al. 2006; Hagman e Shine 2006; Lin e Kam 2008).

(2) A segunda abordagem consiste em experimentos controlados em cativeiro ou semi-cativeiro (poças artificiais introduzidas em ambiente natural). Poças artificiais (e.g., recipientes plásticos) são dispostas de forma replicada (aos pares ou em blocos) para simular sítios potenciais de oviposição com diferenças nos fatores investigados (e.g., predador presente vs. ausente). Os tratamentos normalmente correspondem a sítios de baixa qualidade por oferecer, por exemplo, riscos de dessecação, competição, parasitismo, predação ou diferentes combinações e intensidades desses fatores. Os controles não apresentam esses fatores adversos e seriam, portanto, mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos. O comportamento das fêmeas é avaliado com base na distribuição dos ovos e girinos entre os tratamentos (ou controle). O objetivo principal do estudo é distinguir se a distribuição dos ovos é aleatória ou se as fêmeas são capazes de selecionar sítios de melhor qualidade (e.g., Resetarits Jr. e Wilbur 1989; Crump 1991;

Hopey e Petranka 1994; Petranka et al. 1994; Laurila e Aho 1997; Dillon e Fiaño 2000; Binckley e Resetarits Jr. 2002, 2003; Rieger et al. 2004; Halloy 2006; Haramura 2008).

(3) Alguns trabalhos têm procurado associar quantificações de eventos reprodutivos e experimentos de manipulação no ambiente natural. Nesta abordagem, o pesquisador determina alguns fatores-chave que afetam o sucesso reprodutivo da espécie em questão e depois avalia se esses fatores de fato influenciam a distribuição espacial e temporal das desovas. Para que o estudo não se limite a análises de correlação, experimentos podem ser realizados para atestar se há relação causal entre os fatores analisados e as escolhas das fêmeas. Aqui o objetivo principal é determinar se a escolha da fêmea quanto ao momento e local de postura reflete os principais riscos à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos (e.g., Spieler e Linsenmair 1997; Marsh e Borrell 2001; Murphy 2003ab; Rudolf e Rödel 2005).

Compilação bibliográfica

Em geral, os estudos têm demonstrado que fêmeas de diversas espécies de anuros de diferentes grupos selecionam sítios de oviposição mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento de seus ovos e girinos (e.g., Skelly 2001; Binckley e Resetarits Jr. 2002, 2003; Murphy 2003ab; Rieger et al. 2004; Rudolf e Rödel 2005; Goldberg et al. 2006; Halloy 2006; Haramura 2008). Dentre aproximadamente 35 estudos de caso publicados envolvendo 24 espécies, apenas em *Rana temporaria* Linnaeus, 1758 (Ranidae), a fêmea parece não ser seletiva em relação à presença de predadores de seus girinos (e.g., larvas de insetos, peixes) (Laurila e Aho 1997; Laurila 1998). Dentre esses estudos, compilamos na Tabela 2 os dados de publicações com quantificações mais robustas, experimentos elaborados e conclusões generalizadas sobre o assunto. Nela, apresentamos sucintamente as respostas das fêmeas, segundo a interpretação dos autores, frente aos principais fatores

adversos à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos. Destacamos que, no presente momento, em decorrência do número ainda insuficiente de publicações, da diversidade de linhagens (e.g., famílias), de fatores (e.g., tipo de predador), contextos (e.g., biomas, habitats) e métodos dos diferentes estudos, ainda não é possível uma avaliação formal quantitativa (estatística) de eventuais padrões e tendências gerais.

A seleção de sítios de oviposição nos anuros parece envolver reconhecimento e discriminação de características estruturais e físico-químicas do corpo d'água (e.g., tamanho, profundidade, temperatura, pH) e/ou evitação de fatores de risco como dessecação, competição, parasitismo, canibalismo e predação (referências: Tabela 2). Os autores interpretaram a seleção como comportamentos deliberados de preferência ou evitação de determinadas condições no sentido de favorecer o sucesso reprodutivo individual. A escolha depende da abundância e qualidade relativa dos sítios, da capacidade de discriminação das fêmeas e da competição entre elas por locais de postura (Binckley e Resetarits Jr. 2003; Murphy 2003a; Rudolf e Rödel 2005). No geral, as fêmeas parecem reconhecer e discriminar diferenças sutis entre micro-ambientes similares (e.g., Kam et al. 1996; Rudolf e Rödel 2005; Ficetola et al. 2006; Haramura 2008; Lin e Kam 2008). No entanto, os mecanismos sensoriais que elas utilizam para discriminar as condições de sítios potenciais de oviposição ainda são praticamente desconhecidos. Spieler e Linsenmair (1997) sugeriram que fêmeas de *Hoplobatrachus occipitalis* (Gunther, 1858) (Dicroglossidae) avaliam a presença, densidade e tamanho de girinos coespecíficos através do olfato.

Estudos de caso

Fêmeas de *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) (Ranidae) preferem desovar em sítios defendidos por machos maiores, onde seus embriões se desenvolvem mais rapidamente (água mais quente) e são menos atacados por sanguessugas. Portanto, a territorialidade parece estar relacionada ao domínio de locais de postura de maior qualidade e a predação por sanguessugas deve ser a principal pressão no processo de escolha (Howard 1978).

Lithobates sylvaticus (LeConte, 1825) desova comunalmente e prefere poças maiores e micro-ambientes com água mais quente, provavelmente porque essas condições aceleram o desenvolvimento dos girinos e reduzem os riscos de dessecação (Seale 1982). *Lithobates sphenoccephalus* (Cope, 1886) apresenta desovas comunais apenas na estação fria (Caldwell 1986). Portanto, desova comunal deve conferir um micro-ambiente termicamente favorável aos ovos (e.g., acelerar o desenvolvimento) de espécies de *Lithobates* que se reproduzem em poças temporárias em regiões frias (Caldwell 1986).

Em condições experimentais, Zina (2006) observou que fêmeas de *Engystomops pustulosus* (Cope, 1864) (Leiuperidae) preferem desovar comunalmente, o que parece reduzir os riscos de dessecação de ovos e girinos. Desovas comunais ocorrem em outras espécies de Leiuperidae (e.g., *Eupemphix nattereri* Steindachner, 1863, *Physalaemus marmoratus* (Reinhardt e Lutken, 1862)), porém, ainda não foi demonstrado se este fenômeno é gerado pelo comportamento de escolha efetiva das fêmeas. Outra distinção importante seria determinar se desovas comunais ocorrem porque as fêmeas preferem desovar em sítios já ocupados por desovas coespecíficas ou representam apenas um efeito colateral da escolha de sítios de maior qualidade por várias fêmeas com base em outros fatores ambientais (Giaretta e Menin 2004; Giaretta e Facure 2006). Portanto, estudos adicionais serão necessários para comprovar se este fenômeno é gerado pelo

comportamento de escolha efetiva das fêmeas e quais as vantagens e desvantagens associadas.

Lithobates sylvaticus e *L. palustris* (LeConte, 1825) preferem habitats sem peixes (Hopey e Petranka 1994; Holomuzki 1995), porém *Rana temporaria* (Ranidae) parece não evitar a presença de larvas de insetos ou peixes predadores de seus girinos (Laurila e Aho 1997; Laurila 1998). Em *R. japonica* Boulenger, 1879, a escolha de locais de postura parece envolver um balanço entre tamanho do corpo d'água e competição intra-específica. Entre poças pequenas, as fêmeas evitam aquelas com ovos e girinos coespecíficos, o que não ocorre entre poças maiores (Matsushima e Kawata 2005).

Bufo bufo (Linnaeus, 1758) e *Epidalea calamita* (Laurenti, 1768) (Bufonidae) preferem poças maiores apesar de conterem peixes predadores, provavelmente porque seus girinos são impalatáveis (Banks e Beebee 1987; Laurila 1998). No entanto, *Anaxyrus americanus* (Holbrook, 1836) (Bufonidae) escolhe poças mais efêmeras, porém sem peixes (Holomuzki 1995), e evitam também girinos de *Lithobates sylvaticus*, os quais são predadores de seus ovos e girinos (Petranka et al. 1994). Em *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758) (Bufonidae), características estruturais e físico-químicas do corpo d'água parecem ser mais importantes que a presença de insetos e peixes predadores no processo de escolha. Poças temporárias, rasas, menos ácidas, com água transparente e sem vegetação marginal são preferidas, provavelmente porque essas condições aceleram o desenvolvimento dos girinos (Evan et al. 1996; Hagman e Shine 2006).

Os hilídeos (Hylidae) serviram de modelo em estudos experimentais. Em geral, os testes demonstraram que as fêmeas são realmente capazes de selecionar sítios de oviposição mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento de seus ovos e girinos. Nos experimentos, *Hyla chrysoscelis* Cope, 1880, *H. squirella* Bosc in Daudin, 1800 e *H. femoralis* Bosc in Daudin, 1800 (Hylidae) evitaram poças com peixes, distribuindo a

maioria (até 95%) de suas desovas em situação-controle (sem peixes). Como tendência geral, as fêmeas parecem não discriminar entre níveis contínuos de densidade desses predadores, mas apenas as condições de presença ou ausência, as quais produzem diferenças significativas na sobrevivência dos girinos (Resetarits Jr. e Wilbur 1989; Binckley e Resetarits Jr. 2002, 2003; Rieger et al. 2004).

As fêmeas de espécies de Hylidae respondem a outros fatores adversos além da predação por peixes. Por exemplo, *Isthmohyla pseudopuma* (Gunther, 1901) reduz os riscos de canibalismo e dessecação ao preferir poças mais profundas e sem girinos coespecíficos. A escolha resulta de um balanço, porque, no início da noite, poças profundas são favorecidas, porém quando elas se saturam de ovos, a preferência muda para poças rasas com menos ovos (Crump 1991). Fêmeas de *H. versicolor* LeConte, 1825 reconhecem a presença de caramujos portadores de trematódeos parasitas e escolhem poças sem esses moluscos ou com poucos indivíduos não infectados, reduzindo, assim, os riscos de parasitismo de seus girinos (Kiesecker e Skelly 2000).

Os autores desses estudos experimentais com os hílídeos ressaltam que a seleção de sítios de oviposição pode influenciar na dinâmica de populações e na estrutura de comunidades, promovendo, por exemplo, a segregação de hábitat entre espécies competidoras ou entre espécies-presa e seus predadores. Assim, a ausência de uma espécie num determinado local pode ser atribuída não somente a efeitos diretos (mortalidade) da dessecação, competição, parasitismo ou predação, mas também, ao comportamento de evitação da fêmea a esses fatores adversos (Resetarits Jr. e Wilbur 1989; Crump 1991; Hopey e Petranks 1994; Kiesecker e Skelly 2000; Binckley e Resetarits Jr. 2002, 2003; Rieger et al. 2004; Resetarits Jr. 2005).

Alguns pesquisadores analisaram a seleção de sítios de oviposição em ambiente natural associando experimentos de manipulação das condições locais (e.g., Spieler e

Linsenmair 1997; Marsh e Borrell 2001; Murphy 2003ab; Rudolf e Rödel 2005). Espécies que põem seus ovos em ninhos de espuma flutuantes (muitas espécies de Leiuperidae e Leptodactylidae) foram utilizadas como modelo em alguns desses estudos (e.g., Halloy e Fiaño 2000; Marsh e Borrell 2001; Murphy 2003ab). Os autores investigaram se as escolhas dos parentais refletiam os principais riscos à sobrevivência dos ovos e girinos. Os experimentos testavam se havia evidência de relação causal entre os fatores analisados e as respostas das fêmeas. Em geral, esses estudos (detalhados logo abaixo) demonstraram que a seleção envolve um balanço entre fatores físicos e bióticos e que os parentais podem adotar diferentes estratégias em resposta a variações ambientais nas escalas espacial e temporal (e.g., variação sazonal na densidade de predadores, riscos de dessecação), embora as escolhas nem sempre assegurem proteção absoluta aos ovos e girinos (Spieler e Linsenmair 1997; Marsh e Borrell 2001; Murphy 2003ab). Fatores de mortalidade de ovos e larvas, tais como dessecação e predação, causam maior impacto no sucesso reprodutivo dos parentais comparado à competição ou características estruturais e físico-químicas do corpo d'água. Portanto, é provável que fatores de mortalidade direta sejam as principais pressões sobre a evolução de mecanismos sensoriais que permitam acessar a qualidade do ambiente de reprodução (Spieler e Linsenmair 1997; Murphy 2003ab; Rudolf e Rödel 2005).

A idade da poça e propriedades químicas da água não influenciam na escolha de sítios por *Engystomops pustulosus* (Leiuperidae) (Fegraus e Marsh 2000). Em experimentos, os parentais evitam poças com ninhos e girinos coespecíficos, porém, em riachos naturais, poças ocupadas por coespecíficos são selecionadas, provavelmente porque estes indicam condições favoráveis (Dillon e Fiaño 2000; Marsh et al. 2000; Marsh e Borrell 2001). Como o aumento da densidade retarda o crescimento dos girinos, a evitação de coespecíficos pode ser uma estratégia vantajosa em experimentos cujo

contexto homogêneo não oferece outros fatores adversos a serem considerados pela fêmea. No riacho, a aparente preferência por sítios ocupados provavelmente representa uma resposta à qualidade do hábitat e não à presença de coespecíficos, visto que poças maiores e com mais folhas são as mais utilizadas. Portanto, a seleção de sítios de oviposição nesta espécie envolve um balanço entre fatores físicos e bióticos e os parentais podem adotar estratégias opostas em função do contexto ecológico (Marsh e Borrell 2001).

A dessecação e predação por larvas de insetos são as principais ameaças ao sucesso reprodutivo de *Edalorhina perezi* Jimenez de la Espada, 1870 (Leiuperidae) em seu hábitat natural (Murphy 2003a). Os adultos respondem parcialmente a esses fatores na distribuição de suas desovas no ambiente. Por exemplo, poças recém-formadas logo após a incidência de chuvas possuem menos insetos predadores (e.g., náíades de Odonata) e são ativamente selecionadas como sítios de vocalização e oviposição. Até meados da estação chuvosa, as fêmeas escolhem poças com maior persistência hídrica, porém, no final, poças efêmeras são as mais utilizadas apesar de oferecerem maiores riscos de dessecação. A presença de coespecíficos retarda o crescimento dos girinos, aumentando os riscos de morte por dessecação, porém, a competição intra-específica parece ser secundária na seleção em relação à predação (Murphy 2003a).

Em experimentos conduzidos no campo, os adultos de *E. perezi* também escolhem poças sem insetos predadores como sítios de vocalização e oviposição, mas as fêmeas são mais seletivas e evitam também girinos coespecíficos (Murphy 2003b). Ambos os sexos preferem tratamentos com os riscos de competição intra-específica em vez de predação, resposta condizente com o maior impacto da predação na sobrevivência dos ovos e girinos em condições naturais (Murphy 2003ab). As escolhas das fêmeas exibem variação sazonal, porque, no início da estação chuvosa, elas evitam poças com predadores, mas no final não, provavelmente porque a densidade deles diminui no decorrer da estação ou porque elas

tornam-se menos seletivas em razão da aproximação do final do período reprodutivo. No entanto, o esclarecimento deste fenômeno requer mais estudos. As fêmeas podem atrasar a postura quando todos os tratamentos oferecem riscos (competição/ predação) (Murphy 2003b). Esse atraso pode ser vantajoso, porque eventos de secagem completa do corpo d'água eliminam coespecíficos e predadores aquáticos, tornando as poças recém-formadas mais favoráveis à oviposição (Murphy 2003a). Portanto, as escolhas das fêmeas de *E. perezi* respondem parcialmente aos principais riscos à sobrevivência de sua prole e se ajustam a variações ambientais nas escalas espacial e temporal, mas essa capacidade de resposta é limitada e, frequentemente, resulta em perdas parciais ou totais de desovas e girinos (Murphy 2003ab).

Dessecação e canibalismo são os principais riscos à sobrevivência de girinos de *Hoplobatrachus occipitalis* (Dicroglossidae). A seleção de sítios de oviposição nesta espécie reflete esses riscos, porque as fêmeas escolhem poças mais persistentes e sem ovos ou girinos coespecíficos. Em experimentos no ambiente natural, elas são capazes de reconhecer também diferenças na densidade e classes de tamanho de girinos coespecíficos, porque poças com menores densidades ou aquelas com girinos menores são escolhidas. Provavelmente, elas analisam a estabilidade das poças monitorando a redução no volume de água em visitas consecutivas. Como os experimentos excluía a possibilidade de avaliações táteis e visuais (tela protetora), é provável então que as fêmeas reconhecessem a presença, densidade e tamanho dos girinos usando o olfato (Spieler e Linsenmair 1997).

Phrynobatrachus guineensis Guibe e Lamotte, 1962 (Phrynobatrachidae) desova em fitotelmatas ou conchas vazias de moluscos. Os adultos selecionam sítios para vocalização e oviposição com maior capacidade de retenção de água, reduzindo, assim, os riscos de dessecação dos girinos. Provavelmente, eles monitoram a redução no volume de

água em visitas consecutivas antes da escolha definitiva. No entanto, muitos sítios com estabilidade hídrica favorável à oviposição não são utilizados, porque as fêmeas preferem aqueles já ocupados por ovos e girinos coespecíficos, os quais devem indicar ausência ou baixa densidade de predadores. Portanto, a seleção de sítios de oviposição em *P. guineensis* envolve um balanço entre fatores abióticos e bióticos. A estabilidade hídrica define inicialmente sítios propícios à oviposição, enquanto que a presença de coespecíficos explica as diferenças na frequência de uso dentre esses sítios inicialmente favoráveis (Rudolf e Rödel 2005).

Conclusões gerais

Neste tópico, destacamos alguns padrões gerais da seleção de sítios de oviposição e apresentamos ao final algumas questões com potencial para serem exploradas em estudos futuros. A seleção efetiva de sítios de oviposição ocorre em espécies de anuros de diferentes grupos e em habitats variados e, provavelmente, evoluiu em resposta a pressões seletivas diversas (ver Tabela 2). Em geral, os parentais possuem a capacidade de reconhecer, discriminar e selecionar micro-sítios mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos, procurando maximizar, portanto, o sucesso reprodutivo individual. A seleção é realizada essencialmente pelas fêmeas, mas, em algumas espécies (e.g., *Edalorhina perezi*, *Lithobates catesbeianus*, *Phrynobatrachus guineensis*), os machos também participam do processo ao escolherem sítios de vocalização com condições favoráveis à oviposição (e.g., predadores ausentes), porém, mesmo nestes casos, eles são menos seletivos (e.g., indiferentes à presença de girinos coespecíficos).

No ambiente natural, a seleção de sítios de oviposição ocorre em contexto ecológico heterogêneo, variável no tempo e no espaço e envolve um balanço entre fatores

abióticos e bióticos. Os fatores que causam mortalidade direta dos ovos e girinos, tais como dessecação e predação, parecem ter maior impacto no processo de escolha em comparação a outros fatores como, competição ou características estruturais e físico-químicas do corpo d'água.

De maneira geral, as escolhas das fêmeas refletem os principais riscos à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos, normalmente apresentam flexibilidade em função do contexto ecológico e promovem um aumento potencial do sucesso reprodutivo. No entanto, as escolhas apresentam eficiência relativa e não são raros os eventos de perda parcial ou total de desovas e girinos.

Além de afetar o sucesso reprodutivo dos parentais, a seleção de sítios de oviposição tem potencial para influenciar a dinâmica de populações e a estrutura de comunidades ao promover a segregação ou co-ocorrência de determinadas espécies. Portanto, é importante considerar esse comportamento em estudos de ecologia de populações e comunidades.

Desovas comuais ocorrem em algumas espécies das famílias Ranidae (e.g., *Lithobates sylvaticus*, *L. sphenoccephalus*) e Leiuperidae (e.g., *Eupemphix nattereri*), porém, ainda não foi demonstrado se este fenômeno é gerado pelo comportamento de escolha efetiva das fêmeas.

Um aspecto ainda pouco explorado refere-se aos mecanismos sensoriais que as fêmeas utilizam para reconhecer e discriminar as condições do ambiente de reprodução. Novamente, os anuros podem servir de modelo para esclarecer a evolução desses mecanismos que possibilitam aos organismos selecionarem sítios de oviposição mais favoráveis ao seu sucesso reprodutivo.

Os anuros têm sido amplamente utilizados como modelo em estudos sobre seleção de sítios de oviposição. No entanto, espécies com desova terrestre e girinos aquáticos ainda

não foram devidamente exploradas, o que seria pertinente uma vez que as fases iniciais do desenvolvimento ocorrem em ambientes totalmente diferentes daqueles onde os girinos se desenvolvem. Considerando as diferenças entre os ambientes terrestre e aquático nos elementos abiótico e biótico, é provável então que as condições favoráveis para desovas terrestres e girinos aquáticos sejam de naturezas diversas, o que deve exigir das fêmeas critérios diferenciados no processo de escolha (e.g., micro-ambiente sombreado para desovas- proteção contra dessecação *versus* corpo d'água iluminado para os girinos- acelerar o desenvolvimento larval).

Tabela 2. Os principais estudos sobre seleção de sítios de oviposição em anuros (Anura). A espécie estudada, condições de campo e experimentais, fatores significativos que afetam a sobrevivência de ovos/girinos e interpretação dos autores em relação às respostas das fêmeas frente a esses fatores estão apresentados para cada publicação. Atualizado e modificado de Skelly (2001).

FONTE	ESPÉCIE	CONDIÇÕES	FATORES ANALISADOS	INTERPRETAÇÃO
Resetarits Jr. e Wilbur (1989)	<i>Hyla chrysoscelis</i>	Poças artificiais (plásticas)	Girinos co-específicos, teleósteos, larvas de salamandra, girinos heteroespecíficos, salamandras adultas e insetos	Evitar competição Evitar predação Nenhum efeito
Crump (1991)	<i>Isthmohyla pseudopuma</i>	Poças artificiais	Girinos coespecíficos canibais, profundidade da poça	Evitar predação Evitar dessecação
Hopey e Petranka (1994)	<i>Lithobates sylvaticus</i>	Poças escavadas (campo)	Teleósteos predadores de ovos	Evitar predação
Petranka et al. (1994)	<i>Anaxyrus americanus</i>	Poças escavadas	Girinos heteroespecíficos predadores de ovos e girinos	Evitar predação
Laurila e Aho (1997)	<i>Rana temporaria</i>	Poças em habitat natural	Teleósteos predadores de girinos	Nenhum efeito
Spieler e Linsemair (1997)	<i>Hoplobatrachus occipitalis</i>	Poças em habitat natural	Girinos co-específicos canibais, teleósteos, estabilidade hídrica da poça	Evitar predação Evitar dessecação
Fegraus e Marsh (2000)	<i>Engystomops pustulosus</i>	Poças artificiais	Idade da poça e propriedades físico-químicas da água	Nenhum efeito
Kiesecker e Skelly (2000)	<i>Hyla versicolor</i>	Poças artificiais	Caramujos infectados com trematódeos parasitas	Evitar parasitismo girinos
Marsh e Borrel (2001)	<i>Engystomops pustulosus</i>	Poças artificiais Riacho natural	Presença de ninhos e girinos co-específicos na poça	Evitar coespecíficos Preferência pela presença de coespecíficos
Binckley e Resetarits Jr. (2002)	<i>Hyla squirella</i>	Poças artificiais	Teleósteos predadores de ovos	Evitar predação
Binckley e Resetarits Jr. (2003)	<i>Hyla chrysoscelis</i>	Poças artificiais	Teleósteos predadores de ovos	Evitar predação
Murphy (2003a)	<i>Edalorhina perezi</i>	Poças em habitat natural	Estabilidade hídrica da poça, náiaes de Odonata predadoras de girinos, presença de ninhos e girinos co-específicos na poça	Evitar dessecação Evitar predação Evitar competição
Murphy (2003b)	<i>Edalorhina perezi</i>	Poças artificiais	Náiaes de Odonata e presença de girinos co-específicos	Evitar predação Evitar competição
Rieger et al. (2004)	<i>Hyla femoralis</i>	Poças artificiais	Teleósteos predadores de girinos	Evitar predação
Rudolf e Rödel (2005)	<i>Phrynobatrachus guineensis</i>	Habitat natural Experimentos (campo)	Estabilidade hídrica da poça e presença de girinos co-específicos	Evitar dessecação Preferência pela presença de coespecíficos

(III) TERCEIRO CAPÍTULO: PARTE II

Oviposition site selection in two basin-building species of
***Leptodactylus* of the *L. pentadactylus* group**
(Anura, Leptodactylidae)

RESUMO: Seleção de sítios de oviposição em duas espécies de *Leptodactylus* (Anura, *Leptodactylidae*). Fêmeas de diversas espécies de anuros selecionam sítios de oviposição mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos. Neste capítulo, averiguamos se *L. labyrinthicus* e *L. siphax* selecionam o micro-ambiente de desova e procuramos determinar alguns fatores-chave correlacionados a essa escolha. Para isso, comparamos ninhos e pontos aleatórios (sorteio) com base em múltiplos fatores abióticos e bióticos com potencial de influenciar a seleção. Para ambas as espécies, os sítios de oviposição e pontos aleatórios diferem substancialmente em relação a alguns fatores analisados. Em comparação aos pontos aleatórios, os ninhos de *L. labyrinthicus* foram postos em sítios menos expostos à insolação, mais planos e próximos da água. Os ninhos de *L. siphax* foram encontrados em sítios menos expostos à insolação, mais planos, menos duros, mais próximos do local mais profundo do curso d'água e associados à água corrente. Tais diferenças entre ninhos e pontos aleatórios sugerem que ambas as espécies não distribuem seus ninhos aleatoriamente no ambiente e provavelmente selecionam micro-ambientes com o potencial de conferir proteção relativa contra fatores de mortalidade de ovos/girinos presentes em seus sítios de reprodução (e.g., dessecação, predação por larvas de dípteros).

PALAVRAS-CHAVE: seleção de hábitat, ninho terrestre, pontos aleatórios, dessecação, predação.

Introduction

Oviposition site selection is a form of habitat selection in which females choose those spawning sites more favorable for the survival and development of their offspring (Bernardo 1996; Resetarits Jr. 1996; Morris 2003). To frogs, several studies report on this behavior in simulated ecological contexts (e.g., predator present vs. absent) (Resetarits Jr. and Wilbur 1989; Binckley and Resetarits Jr. 2002, 2003; Rieger et al. 2004; Halloy 2006). In general, these studies demonstrated that females of several species effectively select conditions that potentially protect their eggs and tadpoles from risks such as desiccation, competition, cannibalism, parasitism, and predation (Resetarits Jr. and Wilbur 1989; Crump 1991; Hopey and Petranka 1994; Petranka et al. 1994; Kiesecker and Skelly 2000; Skelly 2001; Binckley and Resetarits Jr. 2002, 2003; Rieger et al. 2004; review in Silva and Giaretta 2008b).

Other studies analyzed oviposition site selection in natural environments (e.g., Holomuzki 1995; Evans et al. 1996; Spieler and Linsenmair 1997; Marsh and Borrell 2001; Murphy 2003ab; Rudolf and Rödel 2005). Although offspring performance is affected by complex interactions among multiple abiotic and biotic factors, female choices still mirror the main risks for reproductive success. However, this ability is not absolute and substantial losses of eggs and tadpoles can derive from direct mortality risks such as desiccation and predation (Spieler and Linsenmair 1997; Murphy 2003ab; Rudolf and Rödel 2005; Silva and Giaretta 2008b).

In the present study we investigated whether two species of *Leptodactylus* (*L. labyrinthicus* and *L. syphax*) choose specific microhabitats within their natural breeding sites to lay their eggs and searched for possible key factors related to this putative selective behavior.

Methods

Study areas

We collected data between September and December (2006–07) in three areas: the steep banks of the Paranaíba River valley (Araguari MG), Clube Caça e Pesca Itororó (Uberlândia MG), and Parque of Serra de Caldas Novas (Caldas Novas GO). For *L. labyrinthicus*, the data were gathered from four swamps (30–600 m²), two permanent ponds (6–30 m diameter) and three temporary pools (<1 m deep), and for *L. sypfax*, from six rocky streams (130–480 m length; 0.3–6 m wide; 0.02–1.5 m deep).

Sampling design

Within the breeding sites of the species, the microhabitat of each foam nest (egg-clutch) were described based on abiotic and biotic features that could potentially influence female choice (see Tables 3 and 4). The ecological conditions of each foam nest were compared with those of two nearby random points. Along drain channels or streamlets (*L. sypfax*), the random points were established within five meters (upstream/downstream) from the nest and between 0–3 m (random values) from the water border or the deepest point of the channel; these extreme values (0–3) were observed in natural breeding sites of the species (personal observations). In swamps or pools (*L. labyrinthicus*), the random points were established within four meters from the nest in any direction between 0–360° (random values). Random points close (≤ 1 m) to other (conspecific) nests or those coincident with the water surface were substituted by others. We used steel rings (Ø 25 cm) to delimitate random “nest” points.

The measurements of water parameters (depth, turbidity, and flow) were made at the deepest point of the water body adjacent to the nest/random points; for large ponds, in a

point within one meter from the edge of the water body following a perpendicular direction of the nest/random points. Water samples ($n=3$) from nest place surroundings in extreme conditions (e.g., stagnant and turbid water) were collected for analyzing the conductivity, organic matter, pH, and dissolved oxygen.

Oviposition site characterization

We described the microhabitat features of real nesting sites and random points in terms of substrate hardness and slope, distance from adjacent water bodies, maximum depth of these water bodies, distance and level in relation to the deepest point of the water bodies. The slope of the nest sites was measured by using a protractor. To estimate substrate hardness we measured the depth that a sharp steel stick (1m length, 86 g) penetrated the soil when released from a standard height (1 m) in three points around the nest/random points.

We also categorized variables such as substrate type (mud=0, dry earth=1, gravel=2 and rocky=3); sunlight incidence on the points and their adjacent water bodies, in the levels low=0 (<10% of the surface was exposed to sunlight), medium=1 (50%) or high=2 (>90%) (estimated as being at 12:00h); water flow, as still =0, slow-moving=1 or current=2; water turbidity, as transparent=0, brown-turbid=1 (with sediments/earth) or black-turbid=2 (organic matter in decomposition); nest exposure (exposed or partially hidden beneath grasses, leaf litter, or rock crevices); possibility (yes/no) of tadpole dispersion to the nearby water body depending on whether the nest site was sloped towards the adjacent water body; presence or absence of (a) conspecific tadpoles, (b) heterospecific tadpoles, and (c) potential tadpole predators (e.g., naiads, water-bugs, dytiscid diving beetles) in the adjacent water body, based on observation or capture at least one individual by deep sieving the water three times. For *L. syphax*, we also surveyed nest position

(inside/outside) in relation to the streambed (because some nests were found inside and others outside the streambed); presence/absence of rocky pools with stagnant water (≤ 5 m downstream away from the nest/random points); and presence/absence (≤ 5 m downstream) of tadpole foraging patches (rocky ledges exposed to sunlight and covered by a shallow water film).

Statistical analyses

We compared the microhabitat features of the real oviposition sites of the two species in three ways: 1) between species, 2) between real and random points and 3) variation along the breeding season. Continuous and categorical (rank-ordered) variables were analyzed through Mann-Whitney U-tests and categorical variables with two classes (e.g., present/absent), through Chi-square tests with Yates' correction, or Fisher Exact tests when expected frequencies were less than 5%. To evaluate whether the environmental factors changed temporally, we used Kruskal-Wallis tests (Zar 1999).

To determine whether both species effectively select oviposition sites, we compared data on real nests with the random points based on all the measured variables by using the Linear Discriminant Analysis (stepwise option) to find the linear combination of factors that best discriminated nests from random points. The analyses were made using Systat 10.3 software (Wilkinson 1990).

Results

Leptodactylus labyrinthicus built foam nests (n=35) beside temporary or permanent pools in Cerrado wet environments such as Veredas (swamps) and human made clearing in wet places while *L. sypfax* breeds in seasonal or permanent streams in rocky habitats in steep terrains (n=29 nests). Syntopy in nest placement between both species was rare (n=2

sites) and occurs especially when small patches of swamps allow the reproduction of *L. labyrinthicus*. Nests of *L. labyrinthicus* (n=6) and *L. syphax* (n=14) (and tadpoles) were often found in pools with a great quantity of organic matter (e.g., leaf litter) in decomposition; these pools had a stagnant and black-turbid water with 6.4 ± 0.16 of pH, 181 ± 10.3 $\mu\text{mhos/cm}$ of conductivity, 0.24 ± 0.06 mg/L of organic matter and 0 ppm of dissolved oxygen (n=3 pools/samples).

Within their reproductive sites, distances between neighboring nests of *L. labyrinthicus* averaged 106 ± 138 cm (5–390; n=14 measurements) and those of *L. syphax*, 143 ± 147 cm (0–375; n=10). In a swampy/gravel patch (300 m²), foam nests of both species were found syntopically and close to each other (0.5–6 m distance; n=12). To both species, nest-placement sites were often close (0–250 cm distance) to calling sites. Both species built their foam nests beside water, usually in excavated basins, but their oviposition sites differed in some aspects. In comparison with *L. labyrinthicus*, nests of *L. syphax* were found in microhabitats less exposed to sunlight (U=28.6; p=0.02), in harder ground (U=393; p<0.001) and adjacent to water bodies with faster water flow (U=133; p=0.03) and lower levels of tadpole predators ($X^2=9.5$; p=0.002) (see Tables 3 and 4 to compare nest values).

Substrate hardness was the only feature that changed during the reproductive season of *L. labyrinthicus*; both the nests (Kruskal-Wallis=9.1; p=0.01; n=20) and random points (KW=12.3; p=0.002; n=40) occurred in softer ground towards the end of season. The temporal variation in the breeding sites of *L. syphax* was significant throughout season for seven features of the nest sites and their adjacent water bodies. At the beginning of season (mainly in September), the water bodies were less exposed to sunlight (Nests: KW=14.8; p=0.002; n=21/ Random Points: KW=14.5; p=0.002; n=42), more turbid (N: KW=7.6; p=0.055/ RP: KW=18.9; p=0.000), deeper (N: KW=7.9; p=0.048/ RP: KW=8.9;

$p=0.029$), and had slower water flow (N : $KW=8.4$; $p=0.038$ / RP : $KW=20$; $p=0.000$). Only the random points were less exposed to sunlight in September ($KW=7.4$; $p=0.05$), and later on season, only the nests were found in sites which were more distant from the deepest point of the stream ($KW=7.9$; $p=0.049$) and more frequently outside the streambed (at the edges) (75% of the nests; Fisher Exact test: $P=0.03$).

The oviposition sites and random points differed significantly for both species regarding several ecological factors (Tables 3 and 4). In relation to random points, nests of the two species were found in microhabitats less exposed to sunlight, closer to water, and in flatter terrains. The nests of *L. labyrinthicus* were also built in softer ground and those of *L. syphax* were still found in sites closer to the deepest point of stream (outside water), more often within the streambed and in conditions more suitable for tadpole dispersion when compared to the random points. Nevertheless, the characteristics (e.g., depth, flow, turbidity, exposure to sun, tadpole presence, and predators) of the water bodies of the nests did not significantly differ from those of the random points for both species (Tables 3 and 4).

Table 3. Comparison of the ecological conditions of real oviposition sites and random points for *Leptodactylus labyrinthicus* (n=9 reproductive sites). The factors are presented in median values (range) or frequencies and the asterisks (*) indicate those that discriminated nests from random points according to the discriminant analysis.

FACTORS	NESTS (N=20)	RANDOM POINTS (N=40)	STATISTICS
SIGNIFICANT DIFFERENCES			
Exposure (% hide) *	95	50	$\chi^2=9.973$ (p=0.002)
Sunlight exposure	1 (0–2)	2 (0–2)	U=584 (p=0.002)
Substrate type	0 (0–3)	1 (0–3)	U=512 (p=0.05)
Substrate hardness (cm)	11.9 (0–40)	9.4 (3.3–23)	U=260.5 (p=0.029)
Substrate slope (degree) *	0 (0–10)	0 (0–40)	U=523.5 (p=0.021)
Water distance (cm) *	43 (0–200)	89.5 (8–286)	U=591 (p=0.003)
NON-SIGNIFICANT DIFFERENCES			
Height in relation to the deepest point of the adjacent water body (cm)	18.7 (5–36)	20.2 (5–89)	U=474.5 (p=0.242)
Maximum depth of the water body (cm)	9.5 (3.3–36)	8.4 (2.3–36)	U=354.5 (p=0.473)
Water flow	1 (0–2)	1 (0–2)	U=372 (p=0.638)
Sunlight incidence on water body	2 (1–2)	2 (0–2)	U=399.5 (p=0.983)
Turbidity (% water bodies with transparent water)	80	70	$\chi^2=0.266$ (p=0.606)
Conspecific tadpoles (% water bodies with tadpoles detected)	40	37.5	$\chi^2=0.0$ (p=1.0)
Heterospecific tadpoles (% detected)	80	75	$\chi^2=0.012$ (p=1.0)
Potential tadpole predators (% detected) *	85	67.5	$\chi^2=1.289$ (p=0.256)
Possibility of dispersion of nestling tadpoles to the water (% yes)	95	87.5	$\chi^2=0.208$ (p=0.648)

Table 4. Comparison of the ecological conditions of real oviposition sites and random points for *Leptodactylus siphax* (n=6 reproductive sites). The factors are presented in median values (range) or frequencies and the asterisks (*) indicate those that discriminated nests from random points according to the discriminant analysis.

FACTORS	NESTS (N=21)	RANDOM POINTS (N=42)	STATISTICS
SIGNIFICANT DIFFERENCES			
Exposure (% hide) *	100	24	$\chi^2=29.54$ (p<0,001)
Sunlight exposure *	0 (0–2)	2 (0–2)	U=797 (p<0,001)
Substrate slope (degree) *	0 (0)	0 (0–70)	U=588 (p=0,003)
Point position (% within the streambed)	47	9.5	$\chi^2=9.654$ (p=0,002)
Distance from the deepest point of the stream (cm) *	63 (0–296)	216 (16–403)	U=647.5 (p=0,003)
Water distance (cm)	42 (0–280)	165 (7–291)	U=604.5 (p=0,017)
Possibility of dispersion of nestling tadpoles to the water (% yes)	95	69	$\chi^2=4.144$ (p=0,042)
NON-SIGNIFICANT DIFFERENCES			
Substrate type	2 (0–3)	2 (1–3)	U=541 (p=0.116)
Substrate hardness (cm)*	4.3 (0–11)	1.9 (0–8)	U=361 (p=0.232)
Height in relation to the deepest point of the adjacent water body (cm)	23 (4.5–143)	30 (0–85)	U=529 (p=0.199)
Maximum depth of the water body (cm)	6.7 (4–33)	6.6 (1–33)	U=3705 (p=0.303)
Water flow *	2 (0–2)	2 (0–2)	U=487 (p=0.411)
Sunlight incidence on water body	2 (1–2)	2 (0–2)	U=447.5 (p=0.886)
Water turbidity	0 (0–2)	0 (0–2)	U=429.5 (p=0.772)
Conspecific tadpoles (% water bodies with tadpoles detected)*	67	50	$\chi^2=1.575$ (p=0.209)
Heterospecific tadpoles (% detected)	67	52	$\chi^2=0.656$ (p=0.418)
Potential tadpole predators (% detected)	38	21	$\chi^2=1.219$ (p=0.270)
Tadpole forage patches (% nests/random points with these present)	48	24	$\chi^2=2.646$ (p=0.104)
Streambed rocky pools (% nests/random points with these present)	29	31	$\chi^2=0.00$ (p=1.00)

In the discriminant analysis, the canonical function obtained from the linear combination of some ecological factors was highly significant for distinguishing nests from random points for both species, *L. labyrinthicus* (Wilks'lambda=0.625; F=8.236; df=4; p<0.0001) and *L. syphax* (Wilks'lambda=0.209; F=29.807; df=7; p<0.0001). The mean scored values of the variables that discriminated nests from random points were significantly different for both *L. labyrinthicus* (*N*: -1.08±0.51; n=20/ *RP*: 0.54±1.17; n=40/ t-test=7.4; p<0.0001) and *L. syphax* (*N*: -2.71±0.88; n=21/ *RP*: 1.35±1.05; n=42/ t-test=16.1; p<0.0001) (Figure 16). In the Jackknifed classification matrix (discriminant analysis), the percentage of nests and random points classified correctly was higher for *L. syphax* (92%) than for *L. labyrinthicus* (75%) ($X^2=5.38$; df=1; p=0.02); so the differences between nests and random points are even greater for *L. syphax*. The covariance matrixes of nests and random points are not homogeneous for both species (*L. labyrinthicus*: $X^2=43.4$; df=10; p<0.001 and *L. syphax*: $X^2=28.4$; df=15; p= 0.019), because the environmental conditions of the oviposition sites are less variable.

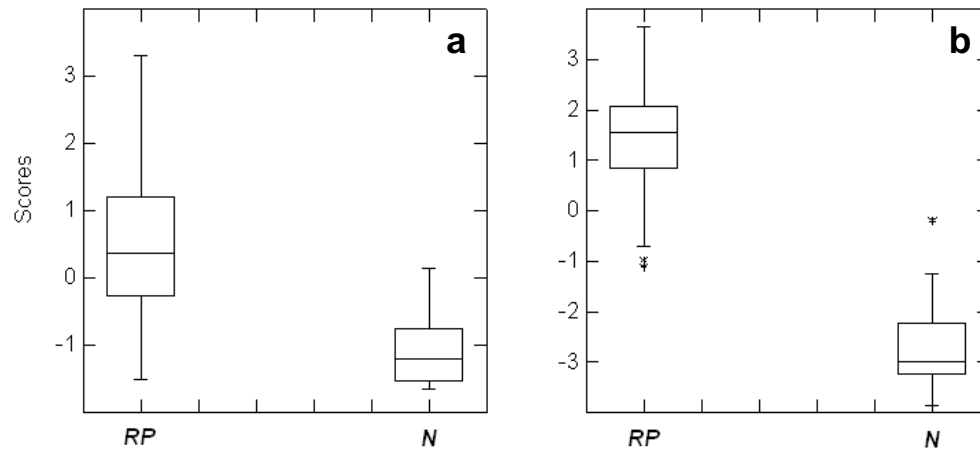


Figure 16. Comparison between the nest sites (*N*) and their respective random points (*RP*) for *Leptodactylus labyrinthicus* (a) and for *L. syphax* (b) based on the linear combination of some abiotic and biotic factors that discriminated these groups according to the discriminant analysis (see the factors in Tables 3 and 4).

The linear function that best discriminated the *L. labyrinthicus* nests from the random points combines factors such as nest exposure (standardized canonical coefficient= 1.742), substrate slope (0.050), water distance (0.006), and presence of tadpole predators (-0.761). The nests, in contrast to the random points, were found in sites less exposed to sunlight, in flatter substrates, closer to water and associated to water bodies containing tadpole predators (Figure 16a; Table 3).

For *L. syphax*, the variables included in the discriminant function are nest exposure (0.535), sunlight incidence (0.637), slope (0.050), substrate hardness (-0.340), distance from the deepest point of stream (0.804), water flow (-0.442), and conspecific tadpole presence (-0.504). The nests, in comparison to the random points, were found in microhabitats less exposed to sunlight, in flatter and softer ground, closer to the deepest point of stream, associated with faster flow and associated to water bodies containing conspecific tadpoles (Figure 16b; Table 4).

In summary, the ecological conditions of the nest microhabitats differ considerably from those of the respective random points for both species, but this difference is even greater for *L. syphax*.

Discussion

The differences between the oviposition sites of *L. labyrinthicus* and *L. syphax* with regard to substrate hardness and water flow are probably related to specificities of the breeding site type of each species. *Leptodactylus labyrinthicus* uses temporary or permanent pools in swampy places, whereas *L. syphax* breeds exclusively beside seasonal rocky streams or rain drainage channels (Silva et al. 2005; Silva and Giaretta 2009). Both species rarely breeds in syntopy, but even in these cases, their nest placement sites vary in

details, with those of *L. sypfax* usually associated with rocky outcrops and water bodies with faster flow (Eterovick and Sazima 2000; Silva and Giaretta 2009; present study).

The significant differences we found between the nest sites and the random points in several ecological factors indicate that both species do not distribute their clutches randomly across the environment but actively select their oviposition sites. The lower variance in the characteristics of the nest sites also indicates that the females use a specific set of conditions out of all those available in the reproductive sites. Since the random points were established around the nests (≤ 5 m distance), we suggest that the females can recognize and discriminate slight differences among similar microhabitats within the reproductive site, as has been demonstrated for other frog species in other ecological contexts (e.g., Kam et al. 1996; Rudolf and Rödel 2005; Haramura 2008; review in Silva and Giaretta 2008b).

Characteristics of the water bodies (e.g., depth, turbidity, sun exposure, predators) adjacent to the nests and the random points were quite similar, indicating some uniformity in the aquatic environment. Thus, shifts of the nest-placement sites could mainly alter the features of the nest microhabitat (e.g., sun exposure, substrate hardness and slope), but not the conditions of the adjacent water body where the tadpoles complete their larval development. Alternatively, females can only assess characteristics of the nest-placement point and they are not able to recognize the potential risks of the adjacent water body (e.g., presence of tadpole predators); besides tadpoles enter the water through nest flooding 9–12 days after egg-laying and, normally, after strong rains that can drastically alter the water body conditions.

Foam nest desiccation and predation by maggots of *Beckeriella niger* (Diptera) are important mortality factors of eggs/early tadpoles of *L. labyrinthicus* and *L. sypfax* (Silva et al. 2005; Silva and Giaretta 2009). The behavior of both species of hiding their foam

nests (e.g., amidst grasses, leaf-litter, in rock crevices) probably protect them from the direct sunlight and prevent the detection by *B. niger* adults. In general, desiccation and predation have been pointed out as key factors in oviposition site selection for several anuran species in diverse ecological contexts (e.g., Crump 1991; Hopey and Petranka 1994; Holomuzki 1995; Spieler and Linsenmair 1997; Murphy 2003ab; Rudolf and Rödel 2005; Silva and Giaretta 2008b).

The water proximity was also an important factor for both species, since water is required for foam beating and tadpole developmental completion (Silva et al. 2005; Silva and Giaretta 2009). The behavior of digging basins for nest deposition (Silva et al. 2005; Silva and Giaretta 2009) probably explains the preference for softer ground. The females of *L. syphax* appear to select microhabitats that are more suitable (e.g., inside streambed) for tadpole access to water via nest flooding and dragging. The streams used by *L. syphax* have intermittent flow and dry out completely during droughts which often cause the mortality of clutches and tadpoles (Silva and Giaretta 2009). Hence the desiccation risk may have exercised great selective pressure on the evolution of this possible ability of *L. syphax* to favor the dispersion of nestling tadpoles to the water.

According to the discriminant analysis, the differences between nests and their respective random points are even greater for *L. syphax* and this fact may indicate that oviposition site selection for this species is stronger when compared with *L. labyrinthicus*. This difference may be related to the breeding site type, since the ecological context affects the responses and the strategies adopted by the females (Marsh and Borrel 2001; Murphy 2003ab). The swamps used by *L. labyrinthicus* seem to be more homogeneous than the breeding sites of *L. syphax*, which have soils with diverse levels of hardness, slope and heterogeneous vegetation (e.g., grasses, scrubs, trees) (Silva et al. 2005; Silva and Giaretta 2009; present study). The flow and other features of the streams (e.g., turbidity, depth)

used by *L. syphax* also change along the rainy season. So these spatial and temporal variations in the environmental conditions probably require a greater ability of this species to select their egg-laying microhabitats.

Oviposition site selection may encompass flexible strategies in response to temporal variations (e.g., changes in predator density or desiccation risks during the rainy season) (e.g., Spieler and Linsenmair 1997; Murphy 2003ab). *Leptodactylus syphax* appears to adjust the nest-placement sites in response to temporal changes in the water flow. At the beginning of rainy season, when droughts are long and frequent, most nests are found within the lower point of the streambed (outside water), and this may favor the tadpole dispersion and reduce desiccation risks. However, later on season, when the flow increases due to heavier and more continuous rains, the nest-placement sites shift to microhabitats outside (at the edges) the streambed and more distant from the deepest point of stream. This modulation probably reduces the risks of dislodgment/break up of recent nests by torrents before the nestling tadpoles are ready for dispersion, what sometimes effectively may happen after heavy rain showers (Silva and Giaretta 2009; present study).

The species of Leiuperidae (e.g., *Physalaemus*) and Leptodactylidae (e.g., *Leptodactylus*) represent good models for field studies on oviposition site selection, because they vary in details within their reproductive modes, breed in diverse habitats (e.g., forests, swamps, pools, ponds, streams) and have conspicuous egg-clutches (white foam nest) (Halloy and Fiaño 2000; Marsh and Borrel 2001; Murphy 2003ab; Giaretta and Facure 2006; Halloy 2006; Silva and Giaretta 2008b; present study). In our analyses, we found some evidence that two basin-building species of *Leptodactylus* do not distribute their nests randomly across the environment, but choose microhabitats that potentially provide relative protection for eggs/nestling tadpoles against the main risks present in their breeding sites (e.g., drying, predation by maggots, and dislodgment/break up by torrents).

CONCLUSÕES GERAIS

Neste tópico, apresentamos as principais contribuições da presente tese e destacamos, ao final de cada assunto, algumas questões com potencial para serem exploradas em estudos futuros, bem como orientações e diretrizes para a coleta de novos dados envolvendo o táxon-modelo e os temas aqui explorados.

Na revisão apresentada no terceiro capítulo (parte I), vimos que a seleção de sítios de oviposição tem sido analisada principalmente em sistemas simplificados (e.g., cativeiro, poças artificiais introduzidas em hábitat natural) (ver tabela 2). Portanto, é importante que estudos de campo sejam realizados para se avaliar a extensão, flexibilidade e efeitos diretos e indiretos desse comportamento de escolha em condições naturais. Destacamos também que os estudos publicados exploraram espécies com desovas e girinos aquáticos e seria também pertinente analisar casos em que as fases iniciais do desenvolvimento ocorrem em ambientes diferentes (e.g., desova terrestre *versus* girino aquático). Em nosso estudo de caso, encontramos evidências de que *Leptodactylus labyrinthicus* e *L. syphax* são capazes de selecionar sítios de oviposição mais favoráveis à sobrevivência das fases iniciais do desenvolvimento em contexto ecológico complexo e variável como o dos ambientes naturais. No entanto, essa seleção parece limitar-se ao ponto de postura do ninho (terrestre) e os adultos provavelmente não são capazes de acessar as condições do corpo d'água adjacente (e.g., presença de predadores) onde os girinos completam o desenvolvimento larval.

As análises apontaram também que a seleção é mais pronunciada e evidente em *L. syphax* em comparação a *L. labyrinthicus*, e atribuímos essa diferença ao tipo de ambiente de reprodução. Em relação aos ambientes brejosos, os habitats rochosos, montanhosos e lóticos utilizados por *L. syphax* (e outras espécies do grupo de *L. pentadactylus*; ver Figura

17: b) provavelmente apresentam contexto ecológico mais heterogêneo e variável, o que deve exigir uma capacidade de discriminação mais ampla e versátil dos adultos no processo de escolha de micro-ambientes de postura.

Em suma, nossos resultados são condizentes com algumas conclusões gerais da literatura corrente sobre o tema, como, por exemplo, as sugestões de que: 1) a seleção de sítios de oviposição é um processo de granulação fina no qual os parentais são capazes de escolher *micro-sítios* de desova no sítio de reprodução; 2) essa seleção responde principalmente a fatores de mortalidade direta da prole, tais como a predação e dessecação, as quais provavelmente representam pressões seletivas-chave na evolução de mecanismos relacionados a essa capacidade de escolha para espécies de diferentes linhagens e em contextos ecológicos diversos e 3) a seleção é um processo contexto-dependente, de maneira que o comportamento de escolha pode envolver estratégias diferentes e parcialmente flexíveis ou moduláveis em função de variações ambientais nas escalas espacial e temporal.

Para estudos futuros, outras espécies com desovas em ninho de espuma em áreas de Cerrado, principalmente *Physalaemus cuvieri*, *P. marmoratus*, *Eupemphix nattereri* (abundantes/ocupam habitats diversos), também poderiam ser exploradas como organismos-modelo para estudos de campo sobre a seleção de sítios de oviposição utilizando um conjunto de fatores (abióticos e bióticos) e delineamento amostral (e.g., comparação entre desovas e pontos aleatórios) similares aos utilizados aqui para as espécies de *Leptodactylus*.

Em relação à contextualização de caracteres, *L. labyrinthicus* e *L. syphax* mostraram-se duas espécies-chave para o esclarecimento de aspectos importantes da história evolutiva de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos no grupo de *L. pentadactylus* (Figura 17). Por exemplo, podemos agora citar possíveis autapomorfias

(derivações exclusivas) comportamentais/ecológicas do grupo (e.g., bacia, batimento da espuma em movimentos laterais; Figura 17: 2,3) e derivações correlatas (evolução associada de caracteres) de prováveis subgrupos monofiléticos (e.g., *girinos lóticos*- subgrupo de espécies associadas a habitats rochosos; Figura 17: *b*; *ovos tróficos*, *girinos carnívoros*- subgrupo de espécies grandes, com >100 mm CRC; Figura 17: *d*, 4-7). Outros aspectos importantes referem-se a possíveis associações evolutivas (derivações correlatas) entre caracteres morfológicos e comportamentais/ecológicos, tais como: girinos com boca grande associados à água corrente; girinos pós-ninho com boca frontal e cauda muscular longa, possibilitando a oofagia especializada como a predação de ovos embebidos em ninhos de espuma heteroespecíficos (ver Tabela 1 no segundo capítulo; Figura 17).

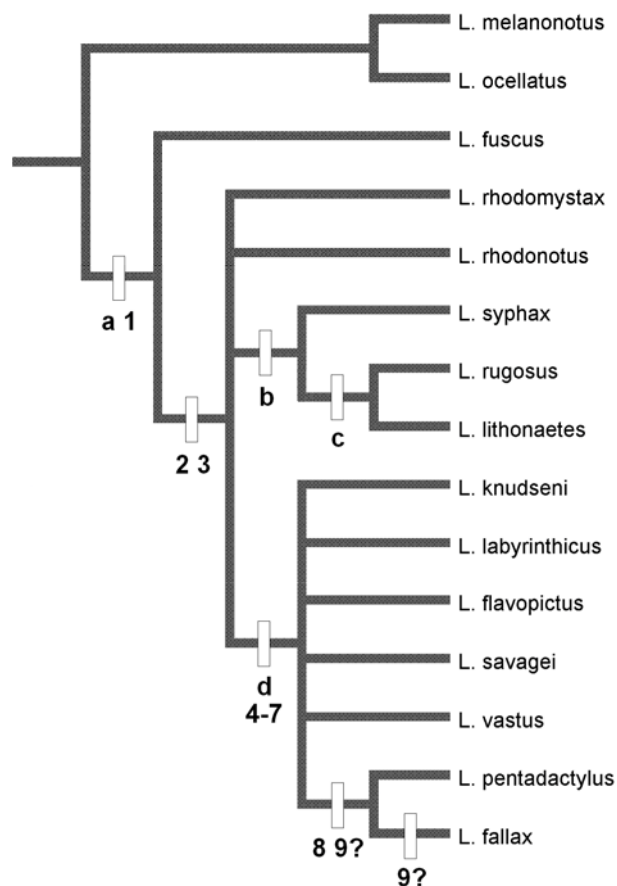


Figura 17. Hipótese sobre a história evolutiva de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos no grupo de *Leptodactylus pentadactylus* (sensu Heyer 1979, 2005). A topologia (filogenia) foi composta com base na literatura (Heyer 1979; Maxson e Heyer 1988; Heyer 1995; Larson e de Sá 1998; Ponssa 2008). Os caracteres estão representados por letras (hipóteses da literatura) ou números (hipóteses da presente tese; ver Discussão do segundo capítulo): **a**=girinos ninhegos capazes de gerar espuma própria; **b**=associação a habitats rochosos/lóticos, girinos com boca grande; **c**=girinos semi-terrestres com corpos achatados e nadadeiras finas; **d**=girinos carnívoros (cauda muscular longa, boca frontal); **1**=girinos aquáticos capazes de sobreviver fora da água; **2**=bacias escavadas pelos adultos; **3**=batimento da espuma do tipo “limpador de pára-brisas”; **4**=adultos grandes (>110 mm CRC); **5**=ovos tróficos; **6**=girinos noturnos; **7**=girinos pós-ninho predadores/oófagos (e.g., conseguem predação ovos de ninhos heteroespecíficos); **8**=desenvolvimento larval completo no ninho; **9**=cuidado maternal.

Em síntese, caracteres como bacia escavada pelos adultos para deposição do ninho, tipo de batimento da espuma, tamanho corporal na fase adulta (moderado ou grande), ovos tróficos, girinos carnívoros/oófagos, girinos lóticos ou lênticos, horário de atividade da fase larval, desenvolvimento larval no ninho parcial ou completo e cuidado maternal representam caracteres-chave e devem receber atenção especial em estudos ecológicos envolvendo membros do grupo de *L. pentadactylus* (ver Figura 17). Na tabela 5, compilamos os dados disponíveis em relação ao estado desses caracteres para todas as espécies do grupo a fim de sintetizar todo o conhecimento pertinente disponível e fornecer um guia de pesquisa para trabalhos futuros.

Identificamos ainda outro possível carácter importante para os grupos de *L. pentadactylus* e de *L. fuscus* (provável grupo irmão): a eventual capacidade de girinos aquáticos (pós-ninho) de sobreviver alguns dias fora da água caso a poça seque completamente (Figura 17: *I*) (Silva e Giaretta, em preparação). Tal capacidade parece representar uma segunda sinapomorfia comportamental/ecológica (além do comportamento de girinos ninhegos de gerar espuma própria- Figura 17: *a*) sustentando o clado de “*L. pentadactylus* + *L. fuscus*”, proposto inicialmente com base em dados moleculares e morfológicos.

Tabela 5a. Diagnose de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos de adultos e girinos de espécies de *Leptodactylus* do grupo de *L. pentadactylus* (sensu Heyer 1979, 2005) (Anura, Leptodactylidae)

Morfologia externa de adultos (machos e fêmeas)

01. Tamanho do corpo (CRC): 0= grande, CRC médio >110 mm; 1= moderado (CRC ≤ 110 mm).

Morfologia externa de girinos (Gosner 35-41)

02. Girino com cauda longa (CT máximo > 65 mm; cauda corresponde ≥ 70% do CT):
0= ausente; 1= presente.
03. Posição do disco oral: 0= anterior (terminal); 1= ventral (subterminal).
04. Nadadeiras reduzidas (guilda semi-terrestre): 0= ausente; 1= presente.

Ninhos de espuma

05. Micro-ambiente de desova: 0= às margens do corpo d'água; 1= em local sem associação com qualquer corpo d'água.
06. Ninhos circunscritos em bacias escavadas pelos parentais: 0= ausente; 1= presente.
07. Número médio de ovos na desova
08. Diâmetro do ovo (mm)
09. Desovas com ovos tróficos: 0= ausente; 1= presente.
10. Cuidado parental (proteção do ninho): 0= ausente; 1= presente.
11. Batimento da espuma do tipo “movimentos de limpador de pára-brisas”: 0= ausente; 1= presente.

Biologia dos girinos

12. Desenvolvimento larval no ninho de espuma: 0= completo; 1= parcial.
13. Micro-habitat: 0= lântico (água parada); 1= rochoso e lótico (água corrente).
14. Girinos carnívoros/oófagos: 0= ausente; 1= presente.
15. Horário de atividade no ambiente: 0= noturno; 1= diurno; 2= diurno e noturno.
16. Girinos pós-ninho capazes de sobreviver alguns dias fora da água: 0= ausente; 1= presente.

Habitat (adultos, girinos)

17. Ocorrência restrita a ambientes rochosos: 0= ausente; 1= presente
-

Como orientação para estudos futuros, sugerimos como prioritária a descrição da ecologia reprodutiva de pelo menos outras duas espécies-chave (e.g., *L. knudseni* e *L. rhodomystax*) pertencentes aos “subgrupos” distintos representados por *L. labyrinthicus* e *L. syphax* (ver grupos *A* e *B* na Tabela 1 na Discussão do segundo capítulo). Como ressaltamos na conclusão do segundo capítulo, se a evolução associada de caracteres de fato existe (ver Tabela 1), será possível prever aspectos importantes da ecologia reprodutiva das espécies do grupo de *L. pentadactylus* com base no tamanho corporal (CRC) de adultos; informação esta disponível em museus e/ou publicações para as 19 espécies-membro. Por exemplo, esperamos que somente espécies grandes (CRC > 110 mm) possuam desovas com ovos tróficos e girinos carnívoros/oófagos. Portanto, com a determinação do estado (e.g., presente/ausente) de caracteres-chave (e.g., bacia, ovos tróficos, girinos carnívoros) com base em novos estudos de campo ou inferência a partir do tamanho dos adultos (evolução associada), análises estatísticas formais (e.g., otimização por parcimônia, sinal filogenético) sobre a história evolutiva de caracteres morfológicos, comportamentais e ecológicos no grupo de *Leptodactylus pentadactylus* (e outros subgrupos como o de *L. fuscus*) poderão ser realizadas assim que topologias mais consistentes e completas forem publicadas para o gênero *Leptodactylus*.

Portanto, dados de auto-ecologia e história de vida contextualizados numa abordagem comparativa (interespecífica) trazem contribuições efetivas e fundamentais para discussões concernentes à filogenia, contexto evolutivo (homologias, derivações, pontos de origem) de caracteres comportamentais e ecológicos e suas possíveis associações/correlações dentro de grupos e subgrupos de espécies. Essa base de dados pode possibilitar também o reconhecimento de espécies-chave e caracteres prioritários a serem explorados em estudos subseqüentes, otimizando, assim, o esforço amostral e o resultado final da pesquisa em foco. Além disso, com sua biologia básica conhecida, um

determinado táxon pode emergir como organismo-modelo a ser explorado em estudos quantitativos e experimentais focando questões teóricas em ecologia e evolução (e.g., seleção de hábitat, evolução associada de caracteres).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostinho CA, Foresti F, Lima SL, Jim J. 2002. Reproduction and population size of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae). Russ J Herpetol. 9(1):15-20.
- Aichinger M. 1992. Fecundity and breeding sites of an anuran community in a seasonal tropical environment. Stud Neotrop Fauna E. 27(1):9–18.
- Almeida AF, Sarmiento FNM. 1998. Parque Estadual da Serra de Caldas Novas – Plano de Manejo. Fundação Estadual do Meio Ambiente, Goiânia, Goiás.
- Altig R, Johnston GF. 1989. Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. Herpetol Monogr. 3:81–109.
- Autumn K, Ryan MJ, Wake DB. 2002. Integrating historical and mechanistic biology enhances the study of adaptation. Quart Rev Biol. 77(4):383–408.
- Banks B, Beebee TJC. 1987. Factors influencing breeding site choice by the pioneering amphibian *Bufo calamita*. Holarctic Ecol. 10(1):14–21.
- Bernardo J. 1996. Maternal effects in animal ecology. Amer Zool. 36(2):83–105.
- Binckley CA, Resetarits Jr. WJ. 2002. Reproductive decisions under threat of predation: squirrel treefrog (*Hyla squirella*) responses to banded sunfish (*Enneacanthus obesus*). Oecologia 130(1):157–161.
- Binckley CA, Resetarits Jr. WJ. 2003. Functional equivalence of non-lethal effects: generalized fish avoidance determines distribution of gray treefrog, *Hyla chrysoscelis*, larvae. Oikos 102(3):623–629.
- Bokermann WCA. 1957. Notas sobre a biologia de *Leptodactylus flavopictus* Lutz, 1926. Rev Brasil Biol. (4):495–500.
- Brooks DR, McLennan DA. 1991. Phylogeny, Ecology, and Behavior: a research program in Comparative Biology. USA: The University of Chicago Press.

- Brooks DR, McLennan DA. 2002. The Nature of Diversity. Univ. Chicago Press.
- Caldwell JP. 1986. Selection of egg deposition sites: a seasonal shift in the southern leopard frog, *Rana sphenocephala*. Copeia 1986(1):249–253.
- Caldwell JP, Lopez PT. 1989. Foam-generating behavior in tadpoles of *Leptodactylus mystaceus*. Copeia 1989:498–502.
- Cardoso AJ, Heyer WR. 1995. Advertisement, aggressive, and possible seismic signals of the frog *Leptodactylus syphax* (Amphibia, Leptodactylidae). Alytes 13(2):67–76.
- Cardoso, AJ, Sazima I. 1977. Batracofagia na fase adulta e larvária de rã-pimenta, *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae). Cienc Cult. 29:1130-1132.
- Crump ML. 1974. Reproductive strategy in a tropical anuran community. Misc Publ Mus Nat Hist Univ Kansas. 61:1–68.
- Crump ML. 1983. Opportunistic cannibalism by amphibian larvae in temporary aquatic environments. Am Nat. 121: 281-287.
- Crump ML. 1986. Cannibalism by younger tadpoles: another hazard of metamorphosis. Copeia 1986(4):1007-1009.
- Crump ML. 1991. Choice of oviposition site and egg load assessment by a treefrog. Herpetologica 47(3):308–315.
- Davis SL, Davis RB, James A, Talyn BCP. 2000. Reproductive behavior and larval development of *Leptodactylus fallax* in Dominica, West Indies. Herpetol Rev. 31(4):217–220.
- De Queiroz A, Wimberger PH. 1993. The usefulness of behavior for phylogeny estimation: levels of homoplasy in behavioral and morphological characters. Evolution 47(1):46–60.

- De Sá RO, Heyer WR, Camargo A. 2005. A phylogenetic analysis of *Vanzolinus* Heyer, 1974 (Anura, Leptodactylidae): taxonomic and life history implications. *Arq Mus Nac.* 63(4):707–726.
- Dillon ME, Fiaño J. 2000. Oviposition site selection by the túngara frog (*Physalaemus pustulosus*). *Copeia* 2000(3):883–885.
- Diniz-Filho JAF. 2000. Métodos Filogenéticos Comparativos. Holos Editora. Ribeirão Preto.
- Dougherty CK, Vaala DA, Smith GR. 2005. Within-pond oviposition site selection in two spring-breeding amphibians (*Ambystoma maculatum* and *Rana sylvatica*). *J Freshwater Ecol.* 20(4):781–782.
- Downie JR. 1984. How *Leptodactylus fuscus* tadpoles make foam, and why. *Copeia* 1984:778–780.
- Downie JR. 1988. Functions of the foam in the foam-nesting leptodactylid *Physalaemus pustulosus*. *Herpetol J.* 1: 302–307.
- Downie J.R. 1990. Functions of the foam in foam-nesting leptodactylids: Anti-predator effects of *Physalaemus pustulosus* foam. *Herp J.* 1: 501–503.
- Duellman, WE, Trueb L. 1994. Biology of amphibians. Baltimore, Johns Hopkins University.
- Eterovick PC, Sazima I. 2000. Description of the tadpole of *Leptodactylus syphax*, with a comparison of morphological and ecological characters of tadpoles and adults of the species in the *Leptodactylus pentadactylus* group (Anura, Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia* 21:341–350.
- Eterovick PC, Sazima I. 2004. Amphibians from the Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. Belo Horizonte: PUC Minas.

- Evans M, Yáber C, Hero JM. 1996. Factors influencing choice of breeding site by *Bufo marinus* in its natural habitat. *Copeia* 1996(4):904–912.
- Fegraus EH, Marsh DM. 2000. Are newer ponds better? Pond chemistry, oviposition site selection, and tadpole performance in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. *J Herpetol.* 34(3):455–459.
- Ficetola GF, Valota M, Bernardi F. 2006. Temporal variability of spawning site selection in the frog *Rana dalmatina*: consequences for habitat management. *Anim Biodivers Conserv.* 29(2):157–163.
- Frost DR. Amphibian species of the world 5.0, an online reference [Internet]. 2007. New York, United States: The American Museum of Natural History; [cited 2008 March 24]. Available from: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>
- Gascon C. 1991. Breeding of *Leptodactylus knudseni*: responses to rainfall variation. *Copeia* 1991(1):248–252.
- Giaretta AA, Facure KG. 2006. Terrestrial and communal nesting in *Eupemphix nattereri* (Anura, Leiuperidae): interactions with predators and pond structure. *J Nat Hist.* 40(44–46):2577–2587.
- Giaretta AA, Menin M. 2004. Reproduction, phenology and mortality sources of a species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae). *J Nat Hist.* 38(13):1711–1722.
- Giaretta AA, Kokubum, MNdeC. 2004. Reproductive ecology of *Leptodactylus furnarius* Sazima e Bokermann, 1978, a frog that lays eggs in underground chambers (Anura: Leptodactylidae). *Herpetozoa* 16(3/4):115–126.
- Giaretta AA, Menin M, Facure KG, Kokubum MNdeC, Oliveira-Filho JC. 2008. Species richness, relative abundance, and habitat of reproduction of terrestrial frogs in the Triângulo Mineiro region, Cerrado biome, southeastern Brazil. *Iheringia, Sér. Zool.* 98(2):181–188.

- Gibson RC, Buley KR. 2004. Maternal care and obligatory oophagy in *Leptodactylus fallax*: a new reproductive mode in frogs. *Copeia* 2004(1):128–135.
- Goldberg FJ, Quinzio S, Vaira M. 2006. Oviposition site selection by the toad *Melanophryniscus rubriventris* in an unpredictable environment in Argentina. *Can J Zool.* 84(5):699–705.
- Gosner KL. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16:183–190.
- Grandcolas P, D’Haese C. 2003. Testing adaptation with phylogeny: how to account for phylogenetic pattern and selective value together. *Zool Scripta* 32(5):483–490.
- Grant T, Frost DR, Caldwell JP, Gagliardo R, Haddad CFB, Kok PJR, Means DB, Nooman, BP, Schargel WE, Wheeler WC. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia, Athesphatanura, Dendrobatidae). *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.*, 299: 1–299.
- Hagman M, Shine R. 2006. Spawning site selection by feral cane toads (*Bufo marinus*) at an invasion front in tropical Australia. *Austral Ecol.* 31(5):551–558.
- Halloy M, Fiaño JM. 2000. Oviposition site selection in *Pleurodema borellii* (Anura, Leptodactylidae) may be influenced by tadpole presence. *Copeia* 2000(2):606–609.
- Halloy M. 2006. Choice of oviposition site in *Pleurodema borellii* (Leptodactylidae): importance of conspecific tadpole size. *S Am J Herpetol.* 1(1):72–78.
- Haramura T. 2008. Experimental test of spawning site selection by *Buergeria japonica* (Anura: Rhacophoridae) in response to salinity level. *Copeia* 2008(1):64–67.
- Harvey PH, Pagel MD. 1991. The comparative method in Evolutionary Biology. Oxford Univ. Press. Oxford.
- Hero JM. 1990. An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brazil. *Amazoniana* 11(2):201–262.

- Hero JM, Galatti U. 1990. Characteristics distinguishing *Leptodactylus pentadactylus* and *L. knudseni* in the Central Amazon rainforest. J Herpetol. 24(2):227–228.
- Hero JM, Magnusson WE, Rocha CFD, Catterall CP. 2001. Antipredator defenses influence the distribution of amphibian prey species in the central Amazon rain forest. Biotropica 33(1):131–141.
- Heyer WR. 1969a. The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Evolution 23(3):421–428.
- Heyer WR. 1969b. Studies on frogs of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). V: Taxonomic notes on *L. latinasus*, *rhodonotus*, *romani*, and *wuchereri*. Herpetologica 25:1–8.
- Heyer WR. 1970. Studies on frogs of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). II: Diagnosis and distribution of the *Leptodactylus* of Costa Rica. Rev Biol Trop. 16(2):171–205.
- Heyer WR. 1978. Systematics of the *fuscus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Nat. Hist. Mus. Los Angeles County Sci Bull. 29:1–85.
- Heyer WR. 1979. Systematics of the *pentadactylus* species group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Smithsonian Contrib Zool. 301:1–43.
- Heyer WR. 1994. Variation within the *Leptodactylus podicipinus-wagneri* complex of frogs (Amphibia: Leptodactylidae). Smith Contr Zool. 546: 1–124.
- Heyer WR. 1995. South American rocky habitat *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) with description of two new species. P Biol Soc Wash. 108(4):695–716.
- Heyer WR. 2005. Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) from Middle America, northern South America, and Amazonia. Arq Zool. 37(3):269–348.

- Heyer WR, Heyer MM. 2001. *Leptodactylus lithonaetes*. Cat Am Amphib Rep. 723:1–3.
- Heyer WR, Heyer MM. 2006. *Leptodactylus knudseni*. Cat Am Amphib Rep. 807:1–12.
- Heyer WR, McDiarmid RW, Weigmann DL. 1975. Tadpoles, predation and pond habitats in the tropics. Biotropica 7(2):100–111.
- Heyer WR, Rand AS. 1977. Foam nest construction in the leptodactylid frogs *Leptodactylus pentadactylus* and *Physalaemus pustulosus* (Anura, Leptodactylidae). J Herpetol. 11(2):225–228.
- Heyer WR, Rand AS, Cruz CAG, Peixoto OL, Nelson CE. 1990. Frogs of Boracéia. Arq Zool. 31(4): 231–410.
- Heyer WR, Thompson AS. 2000. *Leptodactylus rugosus* Noble. Cat Am Amphib Rep. 708:1–5.
- Hödl W. 1990. Biology and physiology of Amphibians. Stuttgart and New York, Fotschritte der Zoologie: W Hanke. Reproductive diversity in Amazonian lowland frogs; p. 41–60.
- Holomuzki JR. 1995. Oviposition sites and fish-deterrent mechanisms to two stream anurans. Copeia 1995(3):607–613.
- Hopey ME, Petranka JW. 1994. Restriction of wood frogs to fish-free habitats: how important is adult choice? Copeia 1994(4):1023–1025.
- Howard RD. 1978. The influence of male defended oviposition sites on early embryo mortality in bullfrogs. Ecology 59(4):789–798.
- Kaiser, H. 1994. *Leptodactylus fallax*. Cat Am Amphib Rep. 583:1–3.
- Kam YC, Chuang ZS, Yen CF. 1996. Reproduction, oviposition site selection, and tadpole oophagy of an arboreal nester, *Chirixalus eiffingeri* (Rhacophoridae), from Taiwan. J Herpetol. 30(1):52–59.

- Kiesecker JM, Skelly DK. 2000. Choice of oviposition site by gray treefrogs: the role of potential parasitic infection. *Ecology* 81(10):2939–2943.
- Kokubum MN de C, Giaretta AA. 2005. Reproductive ecology and behaviour of a species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae) with endotrophic tadpoles: systematic implications. *J Nat Hist.* 39(20):1745–1758.
- Kronfeld-Schor N, Dayan T. 2003. Partitioning of time as an ecological resource. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 34:53–81.
- Larson PM, de Sá RO. 1998. Chondrocranial morphology of *Leptodactylus* larvae (Leptodactylidae: Leptodactylinae): its utility in phylogenetic reconstruction. *J Morphol.* 238:287–305.
- Laurila A, Aho T. 1997. Do female common frogs choose their breeding habitat to avoid predation on tadpoles? *Oikos* 78(3):585–591.
- Laurila A. 1998. Breeding habitat selection and larval performance of two anurans in freshwater rock-pools. *Ecography* 21(5):484–494.
- Lescure J, Letellier F. 1983. Reproduction en captivité de *Leptodactylus fallax* Muller, 1926 (Amphibia, Leptodactylidae). *Rev Fr Aquar.* 2:61–64.
- Lima AP, Magnusson WE, Menin M, Erdtmann LK, Rodrigues DJ, Keller C, Hödl W. 2006. Guide to the frogs of Reserva Adolpho Ducke, Central Amazonia. Manaus, Brazil: Áttema Design Editorial.
- Lin Y-S, Kam Y-C. 2008. Nest choice and breeding phenology of an arboreal breeding frog, *Kurixalus eiffingeri* (Rhacophoridae), in a bamboo forest. *Zool stud.* 47(2):129–137.
- Maddison WP, Maddison DR. 1992. Analysis of phylogeny and character evolution. Version 3.0. Sinauer Ass., Sunderland, Massachusetts.

- Marsh DM, Rand AS, Ryan MJ. 2000. Effects of inter-pond distance on the breeding ecology of túngara frogs. *Oecologia* 122(4):505–513.
- Marsh DM, Borrell BJ. 2001. Flexible oviposition strategies in túngara frogs and their implications for tadpole spatial distributions. *Oikos* 93(1):101–109.
- Martin P, Bateson P. 1986. Measuring behavior an introduction guide. Cambridge University Press, Cambridge.
- Matsushima N, Kawata M. 2005. The choice of oviposition site and the effects of density and oviposition timing on survivorship in *Rana japonica*. *Ecol Res.* 20(1):81–86.
- Maxson LR, Heyer WR. 1988. Molecular systematics of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). *Fieldiana Zool.* 41:1–13.
- Menin M, Giaretta AA. 2003. Predation on foam nests of leptodactyline frogs (Anura, Leptodactylidae) by larvae of *Beckeriella niger* (Diptera, Ephydriidae). *J Zool.* 261:239–243.
- Miyamoto MM. 1981. Congruence among character sets in phylogenetic studies of the frog genus *Leptodactylus*. *Syst Zool.* 30(3):281–290.
- Mitchell NJ. 2002. Nest-site selection in a terrestrially breeding frog with protracted development. *Aust J Zool.* 50(3):225–235.
- Morris DW. 2003. Toward an ecological synthesis: a case for habitat selection. *Oecologia* 136(1):1–13.
- Morin, P. J., 1986, Interactions between intraspecific competition and predation in an amphibian predator-prey system. *Ecology*, 67(3): 713-720.
- Mousseau TA, Fox CW. 1998. The adaptive significance of maternal effects. *Tree* 13(10):403–407.
- Muedeking MH, Heyer WR. 1976. Description of eggs and reproductive patterns of *Leptodactylus pentadactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Herpetologica* 32:137–139.

- Muniz KPR, Silva WR. 2005. *Leptodactylus labyrinthicus* (South American pepper frog): Predation. *Herpetol Rev.* 36(3):302-303.
- Murphy PJ. 2003a. Does reproductive site choice in a Neotropical frog mirror variable risks facing offspring? *Ecol Monogr.* 73(1):45–67.
- Murphy PJ. 2003b. Context-dependent reproductive site choice in a Neotropical frog. *Behav Ecol.* 14(5):626–633.
- Oliveira-Filho JC, Costa HCM, Braga UML. 2005. Egg-laying and foam-beating in *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae). *Biota Neotrop.* 5(2): <http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/pt/abstract?short-communication+bn01305022005>.
- Oliveira PS, Marquis RJ. 2002. The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna. USA: Columbia University Press.
- Petranka JW, Hopey ME, Jennings BT, Baird SD, Boone SJ. 1994. Breeding habitat segregation of wood frogs and American toads: the role of interspecific tadpole predation and adult choice. *Copeia* 1994(3):691–697.
- Ponssa ML. 2008. Cladistic analysis and osteological descriptions of the frog species in the *Leptodactylus fuscus* species group (Anura, Leptodactylidae). *J Zool Syst Evol Res.* 46(3):249–266.
- Prado CPA, Abdalla FC, Silva APZ, Zina J. 2004. Late gametogenesis in *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) and some ecological considerations. *Braz J Morphol Sci.* 21(4):177-184.
- Prado CPA, Toledo LF, Zina J, Haddad CFB. 2005. Trophic eggs in the foam nests of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae): an experimental approach. *Herpetol J.* 15:279–284.

- Prado CPA, Uetanabaro M, Haddad CFB. 2002. Description of a new reproductive mode in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with a review of the reproductive specialization toward terrestriality in the genus. *Copeia* 2002(4):1128–1133.
- Resetarits Jr. WJ, Wilbur HM. 1989. Choice of oviposition site by *Hyla chrysoscelis*: role of predators and competitors. *Ecology* 70(1):220–228.
- Resetarits Jr. WJ. 1996. Oviposition site choice and life history evolution. *Amer Zool.* 36(2):205–215.
- Resetarits Jr. WJ. 2005. Habitat selection behavior links local and regional scales in aquatic systems. *Ecol Lett.* 8(5):480–486.
- Ricklefs RE, Schluter D. 1993. Species diversity in ecological communities: historical and geographical perspectives. The University of Chicago Press. Chicago and London.
- Rieger JF, Binckley CA, Resetarits Jr. WJ. 2004. Larval performance and oviposition site preference along a predation gradient. *Ecology* 85(8):2094–2099.
- Rivero JA, Esteves AE. 1969. Observations on the agonistic and breeding behaviour of *Leptodactylus pentadactylus* and other amphibian species in Venezuela. *Breviora Mus Comp Zool.* 321:1–14.
- Rodrigues DJ, Menin M, Lima AP. 2007. Redescription of the tadpole of *Leptodactylus rhodomystax* (Anura: Leptodactylidae) with natural history notes. *Zootaxa* 1509:61–67.
- Rodríguez LO, Duellman WE. 1994. Guide to the frogs of the Iquitos region, Amazonian Peru. *Nat Hist Mus.* 22:1–80.
- Roelants K, Gower DJ, Wilkinson M, Loader SP, Biju SD, Guillaume K, Moriau L, Bossuyt F. 2007. Global patterns of diversification in the history of modern amphibians. *PNAS* 104(3):887–892.
- Rossa-Feres DC, Nomura F. 2006. Characterization and taxonomic key for tadpoles (Amphibia: Anura) from northwestern region of São Paulo State, Brazil. *Biota Neotrop.*

6(1): <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?identification-key+bn00706012006>.

- Rudolf VHW, Rödel MO. 2005. Oviposition site selection in a complex and variable environment: the role of habitat quality and conspecific cues. *Oecologia* 142(2):316–325.
- Seale DB. 1982. Physical factors influencing oviposition by the woodfrog, *Rana sylvatica*, in Pennsylvania. *Copeia* 1982(3):627–635.
- Semlitsch RD, Reyer HU. 1992. Modification of anti-predator behavior in tadpoles by environmental conditions. *J Anim Ecol.* 61: 353-360.
- Shaffer HB, Alford RA, Woodward BD, Richards SJ, Altig RG, Gascon C. 1994. Quantitative sampling of amphibian larvae: WR Heyer (eds). *Measuring and monitoring biological diversity, standard methods for amphibians*. Smithsonian. Inst. Press, Washington, D.C.
- Shepard DB, Caldwell JP. 2005. From foam to free-living: ecology of larval *Leptodactylus labyrinthicus*. *Copeia* 2005(4):803–811.
- Shine R. 1979. Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia* 1979(2):297–306.
- Silva WR, Giaretta AA, Facure KG. 2005. On the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Anura, Leptodactylidae). *J Nat Hist.* 39(7):555–566.
- Silva WR, Giaretta AA, Facure KG. 2008. Vocal repertoire of two species of the *Leptodactylus pentadactylus* group (Anura, Leptodactylidae). *Contemp Herpetol.* 2008(1):1–6.

- Silva WR, Giaretta AA. 2008a. Further notes on the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae). Braz J Biol. 68(2):403–407.
- Silva WR, Giaretta AA. 2008b. Seleção de sítios de oviposição em anuros (Lissamphibia). Biota Neotrop. 8(2): <http://www.biotaneotropica.org.br/v8n3/en/abstract?thematic-review+bn02008032008>.
- Silva WR, Giaretta AA. 2009. On the natural history of *Leptodactylus syphax* with comments on the evolution of reproductive features in the *L. pentadactylus* species group (Anura, Leptodactylidae). J Nat Hist. (in press).
- Silva WR, Muniz KPR. 2005. *Leptodactylus labyrinthicus* (South American pepper frog): Necrophagy. Herpetol Rev. 36(3):302.
- Skelly DK. 2001. Distributions of pond-breeding anurans: an overview of mechanisms. Israel J Zool. 47:313–332.
- Spieler M, Linsenmair KE. 1997. Choice of optimal oviposition sites by *Hoplobatrachus occipitalis* (Anura, Ranidae) in an unpredictable and patchy environment. Oecologia 109(2):184–199.
- Tozetti AM, Toledo LF. 2005. Short-term movement and retreat sites of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) during the breeding season: a spool-and-line tracking study. J Herpetol. 39(4): 640–644.
- Vieira WLS, Santana GG, Vieira KS. 2007. Description of the tadpole of *Leptodactylus vastus* (Anura, Leptodactylidae). Zootaxa 1529:61–68.
- Villa J, Mcdiarmid RW, Gallardo JM. 1982. Arthropod predator of Leptodactylid frog foam nests. Brenesia 19/20: 577–589.
- Webb CO, Ackerly DD, McPeck MA, Donoghue MJ. 2002. Phylogenies and community ecology. Annu Rev Ecol Evol Syst. 33:475–505.

- Wilkinson, L. 1990. Systat: the system for statistics. Chicago: SPSS.
- Zar JH. 1999. Biostatistical analysis. 4 th ed. New Jersey, Prentice- Hall.
- Zina J, Haddad CFB. 2005. Reproductive activity and vocalizations of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) in Southeastern Brazil. Biota Neotrop. 5(2): <http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/en/abstract?article+bn00605022005>.
- Zina J. 2006. Communal nests in *Physalaemus pustulosus* (Amphibia: Leptodactylidae): experimental evidence for female oviposition preferences and protection against desiccation. Amphibia-Reptilia 27(1):148–150.

Further notes on the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Anura, Leptodactylidae)

Silva, WR. * and Giaretta, AA.

Laboratório de Taxonomia, Sistemática e Ecologia Comportamental de Anuros Neotropicais, Instituto de Biologia,
Campus Umuarama, Universidade Federal de Uberlândia – UFU,
Rua Ceará, sn, Bloco 2D, CEP 38400-902, Uberlândia, MG, Brazil

*e-mail: wagnerdrigues@yahoo.com.br

Received June 7, 2006 – Accepted November 9, 2006 – Distributed May 31, 2008

(With 1 figure)

Abstract

Leptodactylus labyrinthicus tadpoles reach a large size in the nest through consumption of trophic eggs. We previously suggested that the trophic eggs are laid just after amplexus has finished, but our new data do not support this hypothesis. We also present further details on the natural history of the species with regard to breeding activity, spawning site, retreats and the ability of tadpoles in preying upon fully-growth heterospecific tadpoles. We also show that the tadpoles are mainly nocturnal and take diurnal refuges. We collected the data in Brazil in three localities within the Cerrado Biome. We examined burrows used by *L. labyrinthicus* males, verified if females still contained mature eggs just after released from amplexus, and tested the ability of tadpoles in preying fully-growth heterospecific tadpoles. Field observations and experiments were conducted on tadpole activity time, hiding behaviour and level of susceptibility to predation by the bird leaf-scrapers in four sheltering situations. Reproduction could start before the first rains; this may be advantageous by allowing the tadpoles to exploit eggs of other frogs. We found one floating nest built in a temporary pool. The nest of the species is normally circumscribed in an excavated basin beside the water body. Adult males were found during the day with their head-out of the entrance of underwater burrows, which were perforations through dense root mats beside calling/spawning sites. Probably, these burrows in permanently water-filled soil are actively excavated by males. Females released all their eggs during the amplexus, so trophic eggs are not produced by the currently-accepted mechanism. Fully-grown heterospecific tadpoles were not preyed upon by *L. labyrinthicus* tadpoles, which can prey only slow-moving newly hatched ones. Field tadpoles took shelter under mud/dead leaves during daylight and became exposed on the bottom at night. Free-ranging leaf-scrapers removed dead leaves from a pool with their beaks and preyed upon tadpoles. In the experiments, the tadpoles sheltered under gravel/leaves during daylight, but they were exposed at night. Leaf-scrapers ate all exposed tadpoles, but no tadpole of the gravel/leaves trays was consumed. Hence the nocturnal habits and use of diurnal refuges may protect the tadpoles from visual predators, such as the leaf-scrapers.

Keywords: *Leptodactylus pentadactylus* group, reproduction, retreats, trophic eggs, tadpoles.

Notas complementares sobre a história natural da rã-pimenta sul-americana, *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae)

Resumo

Girinos de *L. labyrinthicus* crescem parcialmente no ninho consumindo ovos tróficos. Sugerimos anteriormente que os ovos tróficos seriam postos logo após o amplexo, porém nossos novos dados não corroboram esta hipótese. Apresentamos também mais detalhes da história natural da espécie relacionados à estação reprodutiva, local de desova, abrigos e capacidade dos girinos em predação girinos heteroespecíficos plenamente desenvolvidos. Demonstramos ainda que os girinos são noturnos e se utilizam de refúgios diurnos. Coletamos os dados no Brasil em três locais no Bioma Cerrado. Determinamos o formato e dimensões de buracos utilizados por machos, verificamos se fêmeas liberadas do amplexo ainda portavam óvulos maduros e testamos a capacidade dos girinos em predação girinos heteroespecíficos plenamente desenvolvidos. Realizamos observações naturalísticas e experimentais com girinos para descrever o horário de atividade, comportamento de refúgio e grau de suscetibilidade à predação pela ave sabiá-poca em diferentes tipos de substratos. Desovas podiam ocorrer antes das primeiras chuvas, possibilitando aos girinos explorar ovos de outros anuros no meio da estação chuvosa. Encontramos um ninho construído na superfície da água de uma poça temporária. Os ninhos da espécie geralmente são circunscritos em bacias escavadas às margens do corpo d'água. Machos adultos foram encontrados durante o dia em buracos subaquáticos, os quais eram perfurações adjacentes aos sítios de vocali-

zação/desova. Provavelmente, esses buracos em solos encharcados são ativamente escavados pelos machos. As fêmeas liberam todos os óvulos durante o amplexo, portanto, os ovos tróficos não são produzidos pelo mecanismo aceito presentemente. Os girinos oferecidos nos testes não foram consumidos pelos girinos de *L. labyrinthicus*, os quais conseguem preda apenas recém-eclodidos. No campo, os girinos se refugiavam entre o lodo ou folhas mortas durante o dia, porém ficavam expostos sobre o fundo à noite. Dois sabiás-poca removeram folhas de uma poça e predaram girinos. Nos experimentos, os girinos se escondiam entre o cascalho/folhas no período diurno, mas tornavam-se expostos à noite. As aves predaram todos os girinos expostos, mas nenhum girino nos recipientes com cascalho/folhas foi consumido. Portanto, o hábito noturno e a utilização de refúgios diurnos devem proteger os girinos da espécie contra predadores visualmente orientados, como as aves.

Palavras-chave: grupo de *Leptodactylus pentadactylus*, reprodução, abrigos, ovos tróficos, girinos.

1. Introduction

Several species of *Leptodactylus* of the *L. pentadactylus* group (sensu Heyer, 1979; 2005) build their foam nests on land in excavated basins and have oophagous tadpoles (Muedeking and Heyer, 1976; Cardoso and Sazima, 1977; Hero and Galatti, 1990; Hödl, 1990; Gascon, 1991; Aichinger, 1992; Gibson and Buley, 2004; Prado et al., 2005; Silva et al., 2005). *Leptodactylus labyrinthicus* tadpoles reach a large size within the nest through consumption of trophic eggs, but complete their metamorphosis in water, where they prey upon anuran eggs and tadpoles or feed on carrion (Cardoso and Sazima, 1977; Agostinho et al., 2002; Prado et al., 2005; Shepard and Caldwell, 2005; Silva et al., 2005; Silva and Muniz, 2005; Zina and Haddad, 2005).

Prado et al. (2004) did not find differences in the morphology and staining pattern between ovarian and developing eggs in *L. labyrinthicus*. In a previous study (Silva et al., 2005), we suggested that the trophic eggs of this species are produced by females releasing eggs immediately after the male finished amplexus and left the foam nest. However, herein we present data that do not support this hypothesis. We also present new data on the natural history of this species with regard to seasonality in reproduction, nest building site, diurnal retreats and the ability of the tadpoles in preying upon fully-grown tadpoles of other species. Furthermore, we describe that the tadpoles are mainly nocturnal and take shelter during the day probably to avoid visually-orientated predators.

2. Material and Methods

We carried out the present study (2003-5) in the Brazilian municipalities of Uberlândia (18° 55' S and 48° 17' W), Araguari (18° 29' S and 48° 30' W) (Minas Gerais State), and Caldas Novas (17° 43' S and 48° 40' W) (Goiás State). All localities are in the Cerrado Biome (Central South America savanna) with a wet/hot season from September to April, a dry/mild season from May to August, and with an annual mean precipitation of around 1,500 mm (Oliveira and Marquis, 2002; Giaretta and Kokubum, 2004).

We looked for wintering (June 2003) tadpoles in water bodies (n = 3) often used for reproduction through stovepipe (a metal ring of 45 cm height and 56 cm diameter) sampling (Shaffer et al., 1994) and with the aid of

a sieve (3 mm mesh). We examined underwater burrows used by adults by extending an arm into them to determine their shape and estimate their length/diameter. We removed rotting grass and superficial mud from drying ponds (n = 3) in winter months to look for buried transformed individuals. A clustering behavior of the tadpoles observed in recently dried pools was described.

To test if females still contained mature eggs just after release from amplexus (Silva et al., 2005), we dissected two of them preserved just after the males had left the foam nests (<30 seconds). The egg-clutch of one of these females was examined five days later in order to determine the proportion of eggs and tadpoles. On another occasion, we kept a just-released (amplexus) nesting female under observation until she left the foam nest.

Because we found large-sized tadpoles in an old aged egg clutch, we suspected that tadpoles could complete metamorphosis within the basin. To test this hypothesis we kept individual one-week-old egg clutches (n = 10) in containers (3 L; glass or clay) with 1-2 L of dechlorinated tap water in outdoor experimental conditions. These nests were covered with a fine nylon mesh and kept in a partially-shaded place under ambient temperature (25-29 °C) and photoperiod. We checked for tadpole size twice a week for at least three months. The references to larval stages follow Gosner (1960).

Leptodactylus labyrinthicus tadpoles are known to prey newly-hatched tadpoles of *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 (Cardoso and Sazima, 1977). We offered *P. cuvieri* (19-27 mm TL; stage 25) and *Pseudopaludicola* sp. (17-25 mm TL; stage 25) tadpoles to *L. labyrinthicus* tadpoles (47-55 mm; stage 29-36) to test their ability of preying upon fully-grown tadpoles of other species. These prey tadpoles were collected from water bodies where they occur syntopically with *L. labyrinthicus*. We offered one prey for each *L. labyrinthicus* tadpole in circular containers (1 L) with 0.5 L of water (21-23 °C). We conducted 14 replications throughout one night for each prey species. Prior to prey presentation, *L. labyrinthicus* tadpoles were kept unfed for five days.

Field observations and experiments were conducted on tadpole activity time, hiding behaviour and level of susceptibility to predation by free-ranging leaf-scrappers (*Turdus amaurochalinus* Cabanis, 1851, Passeriformes) (Muniz and Silva, 2005) in four different sheltering sit-

uations. A total of 160 tadpoles (28-43 mm TL; $n = 3$ clutches) was used. We placed groups of 10 tadpoles in white opaque plastic trays (45 x 25 x 8 cm; 3 L water) either without any substrate or with dark-gray gravel and dead leaves (similar to the pools from which they were collected). The first test was to determine the diel pattern of activity and hiding behavior. Two groups of 10 tadpoles were arranged in two trays. In one half of each tray, we placed gravel/leaves, and left the other half without any substrate. Food (a small piece of carrion) was placed on the white-bottomed side of these trays. We took note of the number of tadpoles in each side of the trays during a 24 hours period (1-3 hours intervals).

In a second experiment (80 tadpoles), we assessed the efficiency of gravel/leaves to protect tadpoles from free-ranging leaf-scrappers. We distributed two sets of 10 tadpoles in two trays without any substrate (exposed tadpoles), and two sets in trays with gravel/leaves. In a third experiment (60 tadpoles), we submitted groups of 10 tadpoles to three conditions in three trays: 1) Gravel/leaves, 2) Gravel, and 3) Leaves to determine which of these would provide greater protection against birds. During the tests, we observed the birds' behavior (at least two individuals) with binoculars from about 13 m. The exposures to the predator were carried out in the morning (7:00 AM) and afternoon (5:00 PM). In each experiment, the trays with the different sheltering conditions were exposed simultaneously in the field for 30 minutes.

3. Results and Discussion

3.1. Reproductive activity and oviposition sites

From August/September to February, males called regularly during the night, but on rare occasions ($n = 4$ times; September and November) advertisement calls were heard during sunny hours (10:00 AM-1:00 PM). In contrast to our new data, previous studies described the calling period of *L. labyrinthicus* as being strictly nocturnal (Silva et al., 2005; Zina and Haddad, 2005).

In 2004, rains started in mid-October, but calling activity and egg clutches ($n = 6$) occurred from early September. The long time (up to 25 days) the tadpoles can remain in the nest on their trophic egg-based diet (Prado et al., 2005; Silva et al., 2005) may favor those individuals reproducing before the first rains, because their tadpoles can exploit the eggs of other frog species (e.g., *Physalaemus* spp.) laid just after the first heavy rains (personal observation).

We found one floating egg clutch built amidst a dense tuff of emerging grass-like plants in a small (1.5 m²; 60 cm deep) temporary pool. The foam nest of the species is normally circumscribed in an excavated basin beside the water body (Silva et al., 2005; Zina and Haddad, 2005). Rarely and alternatively, foam nests were found on dry land (Silva et al., 2005) and on the top of water (Eterovick and Sazima, 2000; present study).

Mid-winter (June) stovepipe sampling produced no *L. labyrinthicus* tadpoles ($n = 3$ water bodies, 15 sam-

ples). Regarding the possible protection the basin may offer to eggs/early tadpoles against cannibal tadpoles (Silva et al., 2005), deposition of the foam nest directly on the water at the beginning of the reproductive season would not bring greater risks from conspecifics, as tadpoles of this species do not overwinter.

3.2. Retreats

Adult males ($n = 5$) were found with their head out of the entrance of water-filled burrows during the day. These burrows were perforations through dense root mats beside (30-250 cm distance) calling/spawning sites. Males often took refuge diving into these burrows when observers approached (ca. 4 m; $n = 5$ occasions). Underwater burrows ($n = 5$) had a diameter of around 120 mm and were about 30-80 cm in length (up to 50 cm under water). They were either directed straight towards the bottom ($n = 2$) or curved parallel to the surface ($n = 3$). We recovered individual males from these burrows when extending an arm into them. Three burrows examined in the winter months were not occupied. Tozetti and Toledo (2005) described burrow utilization by both adult males and females *L. labyrinthicus* and suggested that such burrows are constructed by mammals. We agree that those burrows far from the water could be dug by mammals, but suggest that those in swamps (highly humid soil) may have been actively excavated by males. Probably, males establish territories around proper egg-laying sites and use these burrows as diurnal shelters and escape retreats during the reproductive season. Eterovick and Sazima (2004) also referred to the species as using "cavities in swampy areas". Males of *L. flavopictus* Lutz, 1926, another species of the *L. pentadactylus* group (Heyer, 1979), appear to have this burrowing behaviour as well (Bokermann, 1957).

In August (dry season 2003), after removing the dry grasses and superficial (< 10 cm) mud of a drying pool (6 m²), we found three buried juveniles (61-69 mm SVL). All were responsive (not dormant) to manipulation. Compact aggregates ($n = 3$) of living tadpoles (up to 37 individuals; 35-60 mm TL) were found hidden in crevices in soil or under garbage (pieces of clothing and plastic bags) 1-2 days after the ponds had dried out.

3.3. Trophic egg production

Both females collected immediately after being released from amplexus did not bear any mature egg (oocytes) in their ovaries or oviducts. After five days in the field, the egg clutch of one of these females had 111 (5.2%) tadpoles and 2,035 trophic eggs. The female observed after being released from the amplexus remained motionless within the foam nest for 17 minutes before leaving it. Therefore, *L. labyrinthicus* females release all their eggs during the amplexus and the trophic eggs are not produced by a behavioural mechanism as we previously suggested (Silva et al., 2005). More detailed studies on late gametogenesis of the species (Prado et al., 2004) may point to structural differences between trophic and developing eggs. Females of *L. fallax* Muller, 1926

(*L. pentadactylus* species group) periodically release unfertilized (trophic) eggs to feed their tadpoles (Gibson and Buley, 2004). This mechanism does not apply to *L. labyrinthicus*, since in our study area females of this species do not remain or periodically return to their foam nest after mating to lay fresh eggs.

3.4. Tadpole development and behavior

From one of the 10 clutches kept in the laboratory with no food supply other than the original trophic eggs, two tadpoles reached metamorphosis within 54 days (17-19 mm SVL) feeding on trophic eggs and cannibalizing dead siblings. In a second clutch, a tadpole almost reached metamorphosis (60 mm TL; stage 40) after 40 days. In the remaining clutches ($n = 8$), tadpoles died after 1-3 months, the siblings not differing notably in size (< 45 mm TL) after this time. In September 2003, we followed (for 20 days) a clutch isolated from the main water body, which produced three large sized tadpoles (largest = 50.0 mm TL, stage 27); at that age time 1120 trophic eggs remained. Prado et al. (2005) also succeeded in having one tadpole metamorphosing in laboratory conditions similar to our results. *Leptodactylus labyrinthicus* tadpoles are opportunistic cannibals (sensu Crump, 1983; 1986), just eating already dead siblings.

In the laboratory, fully-grown tadpoles of *P. cuvieri* and *Pseudopaludicola* sp. were not preyed upon by *L. labyrinthicus* tadpoles. An important issue in reports on heterospecific tadpole predation by *Leptodactylus* species of the *L. pentadactylus* group is that tadpole consumption is restricted to slow-moving newly hatched preys (Heyer et al., 1975; Cardoso and Sazima, 1977; present study).

3.5. Diel pattern of activity and hiding behavior

Living *L. labyrinthicus* tadpoles are cryptic colored, with a dark gray back and tail. In the field, they normally took shelter under dead leaves or debris during daylight and became exposed on the bottom at night. Tadpoles were seen swarming under foam nests of other leptodactyline frogs (e.g., *Physalaemus* spp.) during the day ($n = 5$ observations).

In our first experiment, tadpoles sheltered under gravel/leaves during daylight (7:00 AM-6:00 PM), but they were exposed around the carrion at night, mainly between 7:00 and 11:00 PM ($n = 38$ inspections) (Figure 1). Tadpoles often took shelter when illuminated by flashlights ($n = 6$ times).

In the field, free-ranging leaf-scrappers were observed removing dead leaves from the bottom of a shallow pool with their beaks and preying upon tadpoles ($n = 10$; ca. 40 mm TL). The leaf-scrappers attempted to prey upon tadpoles in all experimental trays. The birds turned several leaves (ca. 35) of trays with gravels/leaves. In the second experiment, leaf-scrappers ate all exposed tadpoles, but no tadpole of the gravel/leaves trays was consumed. In the third experiment, tadpoles in gravel (90%)

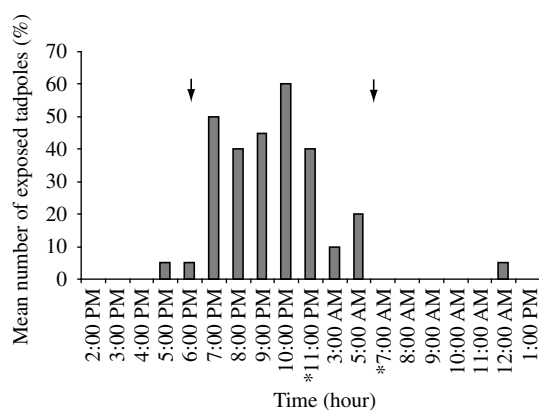


Figure 1. Diel activity pattern of *Leptodactylus labyrinthicus* tadpoles ($n = 20$ individuals; 38 visual inspections). The left and right arrows indicate sunset (6:30 PM) and sunrise (6:30 AM), respectively. * – No inspections were made between 24-2, 4, or 6 hours.

and gravel/leaves (15%) trays were consumed. No tadpole was captured from the trays containing just leaves.

Unpalatability is a main defense of anuran larvae against predaceous teleosts (e.g., Hero et al., 2001). We have no evidence of unpalatability of *L. labyrinthicus* tadpoles to snakes and birds (Muniz and Silva, 2005; present study). The use of diurnal shelters (mud/leaf litter) and nocturnal habits may protect tadpoles from visual predators, such as the leaf-scrappers. As in other systems (review: Kronfeld-Schor and Dayan, 2003), these differential diel activity patterns may allow predator/prey coexistence. The kind of microhabitat used influences predation risks by determining the level of exposure of tadpoles to predators (Morin, 1986). In our experiments, the leaves (and combined gravel/leaves) appear to provide protection to tadpoles against birds by making detection and capture difficult. Besides *L. labyrinthicus*, tadpoles of other species use leaf litter as microhabitat refugia (Morin, 1986; Semlitsch and Reyer, 1992; Hero et al., 2001).

Acknowledgements — We are grateful to FAPEMIG, CAPES (WRS) and CNPq (AAG) for providing grants. Financial support from CNPq and FAPEMIG. K. G. Facure and W. R. Heyer critically read the draft.

References

- AGOSTINHO, CA., FORESTI, F., LIMA, SL. and JIM, J., 2002. Reproduction and population size of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae). *Russ. J. Herpetol.*, vol. 9, no. 1, p. 15-20.
- AICHINGER, M., 1992. Fecundity and breeding sites of an anuran community in a seasonal tropical environment. *Stud. Neotrop. Fauna E.*, vol. 27, no. 1, p. 9-18.
- BOKERMANN, WCA., 1957. Notas sobre a biologia de *Leptodactylus flavopictus* Lutz, 1926. *Rev. Brasil. Biol.*, vol. 17, no. 4, p. 495-500.

- CARDOSO, AJ. and SAZIMA, I., 1977. Batracofagia na fase adulta e larvária de rã-pimenta, *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae). *Cienc. Cult.*, vol. 29, no. 10, p. 1130-1132.
- CRUMP, ML., 1983. Opportunistic cannibalism by amphibian larvae in temporary aquatic environments. *Am. Nat.*, vol. 121, no. 2, p. 281-289.
- , 1986. Cannibalism by younger tadpoles: another hazard of metamorphosis. *Copeia*, vol. 1986, no. 4, p. 1007-1009.
- ETEROVICK, PC. and SAZIMA, I., 2000. Description of the tadpole of *Leptodactylus syphax*, with a comparison of morphological and ecological characters of tadpoles and adults of the species in the *L. pentadactylus* group (Anura, Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia*, vol. 21, no. 3, p. 341-350.
- , 2004. *Amphibians from the Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil*. Belo Horizonte: PUC Minas. 150 p.
- GASCON, C., 1991. Breeding of *Leptodactylus knudseni*: responses to rainfall variation. *Copeia*, vol. 1991, no. 1, p. 248-252.
- GIARETTA, AA. and KOKUBUM, MNC., 2004. Reproductive ecology of *Leptodactylus furnarius* Sazima and Bokermann, 1978, a frog that lays eggs in underground chambers (Anura: Leptodactylidae). *Herpetozoa*, vol. 16, no. 3, p. 115-126.
- GIBSON, RC. and BULEY, KR., 2004. Maternal care and obligatory oophagy in *Leptodactylus fallax*: a new reproductive mode in frogs. *Copeia*, vol. 2004, no. 1, p. 128-135.
- GOSNER, KL., 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, vol. 16, no. 3, p. 183-190.
- HERO, JM. and GALATTI, U., 1990. Characteristics distinguishing *Leptodactylus pentadactylus* and *L. knudseni* in the Central Amazon Rainforest. *J. Herpetol.*, vol. 24, no. 2, p. 227-228.
- HERO, JM., MAGNUSSON, WE., ROCHA, CFD. and CATTERALL, CP., 2001. Antipredator defenses influence the distribution of amphibian prey species in the central Amazon rain forest. *Biotropica*, vol. 33, no. 1, p. 131-141.
- HEYER, WR., 1979. Systematic of the *pentadactylus* species group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Anura). *Smithson. Contrib. Zool.*, vol. 301, p. 1-43.
- HEYER, WR., 2005. Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) from Middle America, northern South America, and Amazonia. *Arq. Zool.*, vol. 37, no. 3, p. 269-348.
- HEYER, WR., McDIARMID, RW and WEIGMANN, DL., 1975. Tadpoles, predation and pond habitats in the tropics. *Biotropica*, vol. 7, no. 2, p. 100-111.
- HÖDL, W., 1990. Reproductive diversity in Amazonian lowland frogs. In W. Hanke (ed.). *Biology and physiology of the amphibians*. Festschriften der Zoologie, Stuttgart and New York.
- KRONFELD-SCHOR, N. and DAYAN, T., 2003. Partitioning of time as an ecological resource. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, vol. 34, p. 153-181.
- MORIN, PJ., 1986. Interactions between intraspecific competition and predation in an amphibian predator-prey system. *Ecology*, vol. 67, no. 3, p. 713-720.
- MUEDEKING, MH. and HEYER, WR., 1976. Description of eggs and reproductive patterns of *Leptodactylus pentadactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Herpetologica*, vol. 32, no. 2, p. 137-139.
- MUNIZ, KPR. and SILVA, WR., 2005. *Leptodactylus labyrinthicus* (South American pepper frog): Predation. *Herpetol. Rev.*, vol. 36, no. 3, p. 302-303.
- OLIVEIRA, PS. and MARQUIS, RJ., 2002. *The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna*. USA: Columbia University Press. 398 p.
- PRADO, CPA., ABDALLA, FC., SILVA, APZ. and ZINA, J., 2004. Late gametogenesis in *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) and some ecological considerations. *Braz. J. Morphol. Sci.*, vol. 21, no. 4, p. 177-184.
- PRADO, CPA., TOLEDO, LF., ZINA, J. and HADDAD, CFB., 2005. Trophic eggs in the foam nests of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae): an experimental approach. *Herpetol. J.*, vol. 15, no. 4, p. 279-284.
- SEMLITSCH, RD. and REYER, HU., 1992. Modification of anti-predator behavior in tadpoles by environmental conditions. *J. Anim. Ecol.*, vol. 61, no. 2, p. 353-360.
- SHAFFER, HB., ALFORD, RA., WOODWARD, BD., RICHARDS, SJ., ALTIG, RG. and GASCON, C., 1994. Quantitative sampling of amphibian larvae. In HEYER, WR., DONNELLY, MA., McDIARMID, RW., HAYEK, LC. and FOSTER, MS. (eds.). *Measuring and monitoring biological diversity, standard methods for amphibians*. Smithsonian, Washington, D.C: Inst. Press. p. 126-130.
- SHEPARD, DB. and CALDWELL, JP., 2005. From foam to free-living: ecology of larval *Leptodactylus labyrinthicus*. *Copeia*, vol. 2005, no. 4, p. 803-811.
- SILVA, WR., GIARETTA, AA. and FACURE, KG., 2005. On the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Anura, Leptodactylidae). *J. Nat. Hist.*, vol. 39, no. 7, p. 555-566.
- SILVA, WR. and MUNIZ, KPR., 2005. *Leptodactylus labyrinthicus* (South American pepper frog): Necrophagy. *Herpetol. Rev.*, vol. 36, no. 3, p. 302.
- TOZETTI, AM. and TOLEDO, LF., 2005. Short-term movement and retreat sites of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) during the breeding season: a spool-and-line tracking study. *J. Herpetol.*, vol. 39, no. 4, p. 640-644.
- ZINA, J. and HADDAD, CFB., 2005. Breeding activity and vocalizations of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) in the southeast of Brazil. *Biota Neotrop.*, vol. 5, no. 2, p. 0-10.



Seleção de sítios de oviposição em anuros (Lissamphibia)

Silva, W.R. & Giaretta, A.A.

Biota Neotrop. 2008, 8(3): 000-000.

On line version of this paper is available from:

<http://www.biotaneotropica.org.br/v8n3/en/abstract?thematic-review+bn02008032008>

A versão on-line completa deste artigo está disponível em:

<http://www.biotaneotropica.org.br/v8n3/pt/abstract?thematic-review+bn02008032008>

Data Received/ Recebido em 09/07/08 -

Revised/ Versão reformulada recebida em 29/08/08 - Accepted/ Publicado em 16/09/08

ISSN 1676-0603 (on-line)

Biota Neotropica is an electronic, peer-reviewed journal edited by the Program BIOTA/FAPESP: The Virtual Institute of Biodiversity. This journal's aim is to disseminate the results of original research work, associated or not to the program, concerned with characterization, conservation and sustainable use of biodiversity within the Neotropical region.

Biota Neotropica é uma revista do Programa BIOTA/FAPESP - O Instituto Virtual da Biodiversidade, que publica resultados de pesquisa original, vinculada ou não ao programa, que abordem a temática caracterização, conservação e uso sustentável da biodiversidade na região Neotropical.

Biota Neotropica is an electronic journal which is available free at the following site
<http://www.biotaneotropica.org.br>

A **Biota Neotropica** é uma revista eletrônica e está integral e gratuitamente disponível no endereço
<http://www.biotaneotropica.org.br>

Seleção de sítios de oviposição em anuros (Lissamphibia)

Wagner Rodrigues da Silva^{1,2} & Ariovaldo Antônio Giaretta¹

¹Laboratório de Taxonomia, Ecologia Comportamental e Sistemática de Anuros Neotropicais,
Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Campus Umuarama,
Bloco 2D, CEP 38400-902, Uberlândia, MG, Brasil, e-mail: thoropa@inbio.ufu.br

²Autor para correspondência: Wagner Rodrigues da Silva, e-mail: wagnerdrigues@yahoo.com.br

SILVA, W.R. & GIARETTA, A.A. **Oviposition site selection in anurans (Lissamphibia)**. Biota Neotrop. 8(2): <http://www.biotaneotropica.org.br/v8n3/en/abstract?thematic-review+bn02008032008>.

Abstract: Oviposition site selection is a kind of habitat selection in which the females choose egg-laying sites that maximize their reproductive success. In the present review, we compiled the main conclusions of major studies on this theme that used frogs as model organisms. In the literature, three main lines of investigations were recognized: 1) multiple factor analyses in natural habitats- within the breeding site, places with eggs/tadpoles are compared with unused sites, testing several abiotic and biotic factors that could potentially influence female's choice; 2) experiments with pools arranged in replicated blocks (treatments/control) to simulate oviposition sites differing in quality and 3) quantification of reproductive events associated with experimental manipulations in the field. Effectively, females of several frog species select oviposition sites more favorable to survival and development of eggs and tadpoles. In general, the female choice depends on the abundance and quality of potential egg-laying sites and on her discriminatory ability. Female choices usually mirror the main risks to survival and growth of the offspring, but discriminatory power is not absolute and partial or total losses of clutches and tadpoles may occur, most of them resulting from desiccation and predation. The sensory mechanisms that females use to discriminate the conditions of potential oviposition sites remain poorly known and unexplored. Besides affecting the parental reproductive success, the selective behavior potentially influence population dynamics and community structure by promoting habitat segregation among competitive species or prey-species and their predators.

Keywords: *habitat selection, egg-laying microhabitat, reproductive success, indirect effects, methodological approaches.*

SILVA, W.R. & GIARETTA, A.A. **Seleção de sítios de oviposição em anuros (Lissamphibia)**. Biota Neotrop. 8(2): <http://www.biotaneotropica.org.br/v8n3/pt/abstract?thematic-review+bn02008032008>.

Resumo: A seleção de sítios de oviposição é uma forma de seleção de hábitat em que as fêmeas escolhem o micro-ambiente de desova procurando maximizar o sucesso reprodutivo. Nesta revisão, compilamos as principais conclusões de estudos sobre seleção de sítios de oviposição tendo os anuros como modelo. Na literatura, podemos reconhecer três linhas principais de investigação: 1) análise de múltiplos fatores em hábitat natural- no ambiente de reprodução, sítios com ovos e girinos são comparados com locais não utilizados com base em fatores abióticos e bióticos com potencial de influenciar a escolha da fêmea; 2) experimentos controlados com poças dispostas em blocos replicados simulando sítios potenciais de oviposição com diferenças na qualidade e 3) quantificações de eventos reprodutivos e experimentos de manipulação em ambiente natural. Fêmeas de várias espécies de anuros selecionam sítios de oviposição mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos. O comportamento de escolha depende da abundância e qualidade relativa dos locais potenciais de desova e da capacidade de discriminação da fêmea. Em geral, as escolhas das fêmeas respondem aos principais riscos à sobrevivência e desempenho da prole, porém apresentam eficiência relativa e perdas parciais ou totais de desovas e girinos são ocasionadas, principalmente, por fatores de mortalidade direta como dessecação e predação. Os mecanismos sensoriais que elas utilizam para discriminar as condições do ambiente de reprodução ainda são praticamente desconhecidos. Além de afetar o sucesso reprodutivo dos parentais, o comportamento de escolha pode influenciar na dinâmica de populações e estrutura de comunidades ao promover a segregação de hábitat entre espécies competidoras ou entre espécies-presa e seus predadores.

Palavras-chave: *seleção de hábitat, micro-ambiente de desova, sucesso reprodutivo, efeitos indiretos, métodos de estudo.*

Introdução

A seleção de habitat é um processo pelo qual indivíduos escolhem ambientes mais favoráveis à sobrevivência e reprodução (revisão em Morris 2003). A seleção de sítios de oviposição é uma forma de seleção de habitat em que os parentais, particularmente as fêmeas, escolhem o micro-ambiente de desova. Esse comportamento afeta o sucesso reprodutivo individual porque estabelece as condições de sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e larvas. Portanto, a seleção natural deve favorecer fêmeas capazes de escolher locais de desova que maximizem o sucesso reprodutivo por meio de uma maior taxa de sobrevivência da prole (Bernardo 1996, Resetarits-Jr. 1996, Mousseau & Fox 1998).

Os anuros têm sido amplamente utilizados como modelo em estudos sobre seleção de sítios de oviposição (e.g., Skelly 2001, Binckley & Resetarits-Jr. 2002, 2003, Murphy 2003a, b, Rieger et al. 2004, Rudolf & Rödel 2005, Goldberg et al. 2006, Halloy 2006, Haramura 2008, Lin & Kam 2008). Eles constituem bons modelos nesse tema porque apresentam modos reprodutivos variados, reproduzem-se em habitats diversos, são relativamente conspicuos devido à vocalização, concentram-se em pequenas áreas no período reprodutivo, desovam em locais espacialmente definidos (e.g., poças) e a maioria possui uma fase larval que se desenvolve nas condições definidas pelos adultos (Duellman & Trueb 1994, Murphy 2003a, Marsh & Borrell 2001, Rudolf & Rödel 2005).

Nesta revisão, compilamos as principais conclusões de estudos sobre seleção de sítios de oviposição em anuros (Anura) visando estabelecer comparações e destacar possíveis padrões e mecanismos gerais desse comportamento. Os dados obtidos através desse táxon podem contribuir para o esclarecimento de aspectos ecológicos e evolutivos da seleção de sítios de oviposição (e.g., principais pressões seletivas, efeitos indiretos nas populações e comunidades) e também para a orientação de linhas gerais de futuras pesquisas.

Métodos de Estudo

Na literatura, podemos reconhecer três linhas principais de investigação sobre seleção de sítios de oviposição:

- 1) Análise de múltiplos fatores em habitat natural: no ambiente de reprodução da espécie em questão, sítios com ovos e girinos são comparados com sítios não utilizados. Fatores abióticos e bióticos com potencial de influenciar a escolha da fêmea são analisados simultaneamente (e.g., profundidade, propriedades físico-químicas da água, presença e tipo de competidores, predadores). Para inferir se há escolha de locais de postura específicos, os estudos analisam se a distribuição das desovas no ambiente tem associação com alguns desses fatores e se existe preferência ou se determinadas condições são evitadas (e.g., Howard 1978, Seale 1982, Caldwell 1986, Banks & Beebe 1987, Holomuzki 1995, Evans et al. 1996, Kam et al. 1996, Laurila 1998, Mitchell 2002, Dougherty et al. 2005, Ficetola et al. 2006, Goldberg et al. 2006, Hagman & Shine 2006, Lin & Kam 2008).
- 2) A segunda abordagem consiste em experimentos controlados em cativeiro ou semi-cativeiro (poças artificiais introduzidas em ambiente natural). Poças artificiais (e.g., recipientes plásticos) são dispostas de forma replicada (aos pares ou em blocos) para simular sítios potenciais de oviposição com diferenças nos fatores investigados (e.g., predador presente vs. ausente). Os tratamentos normalmente correspondem a sítios de baixa qualidade por oferecer, por exemplo, riscos de dessecação, competição, parasitismo, predação ou diferentes combinações e intensidades desses fatores. Os controles não apresentam esses fatores adversos e seriam, portanto, mais favoráveis à

sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos. O comportamento das fêmeas é avaliado com base na distribuição dos ovos e girinos entre os tratamentos (ou controle). O objetivo principal do estudo é distinguir se a distribuição dos ovos é aleatória ou se as fêmeas são capazes de selecionar sítios de melhor qualidade (e.g., Resetarits-Jr. & Wilbur 1989, Crump 1991, Hopey & Petranka 1994, Petranka et al. 1994, Laurila & Aho 1997, Dillon & Fiaño 2000, Binckley & Resetarits Jr. 2002, 2003, Rieger et al. 2004, Halloy 2006, Haramura 2008); e

- 3) Alguns trabalhos têm procurado associar quantificações de eventos reprodutivos e experimentos de manipulação no ambiente natural. Nesta abordagem, o pesquisador determina alguns fatores-chave que afetam o sucesso reprodutivo da espécie em questão e depois avalia se esses fatores de fato influenciam a distribuição espacial e temporal das desovas. Para que o estudo não se limite a análises de correlação, experimentos podem ser realizados para atestar se há relação causal entre os fatores analisados e as escolhas das fêmeas. Aqui o objetivo principal é determinar se a escolha da fêmea quanto ao momento e local de postura reflete os principais riscos à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos (e.g., Spieler & Linsenmair 1997, Marsh & Borrell 2001, Murphy 2003a, b, Rudolf & Rödel 2005).

Compilação Bibliográfica

Em geral, os estudos têm demonstrado que fêmeas de diversas espécies de anuros de diferentes grupos selecionam sítios de oviposição mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento de seus ovos e girinos (e.g., Skelly 2001, Binckley & Resetarits-Jr. 2002, 2003, Murphy 2003a, b, Rieger et al. 2004, Rudolf & Rödel 2005, Goldberg et al. 2006, Halloy 2006, Haramura 2008). Dentre aproximadamente 35 estudos de caso publicados envolvendo 24 espécies, apenas em *Rana temporaria* Linnaeus, 1758 (Ranidae), a fêmea parece não ser seletiva em relação à presença de predadores de seus girinos (e.g., larvas de insetos, peixes) (Laurila & Aho 1997, Laurila 1998). Dentre esses estudos, compilamos na Tabela 1 os dados de publicações com quantificações mais robustas, experimentos elaborados e conclusões generalizadas sobre o assunto. Nela, apresentamos sucintamente as respostas das fêmeas, segundo a interpretação dos autores, frente aos principais fatores adversos à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos. Destacamos que, no presente momento, em decorrência do número ainda insuficiente de publicações, da diversidade de linhagens (e.g., famílias), de fatores (e.g., tipo de predador), contextos (e.g., biomas, habitats) e métodos dos diferentes estudos, ainda não é possível uma avaliação formal quantitativa (estatística) de eventuais padrões e tendências gerais.

A seleção de sítios de oviposição nos anuros parece envolver reconhecimento e discriminação de características estruturais e físico-químicas do corpo d'água (e.g., tamanho, profundidade, temperatura, pH) e/ou evitação de fatores de risco como dessecação, competição, parasitismo, canibalismo e predação (referências: Tabela 1). Os autores interpretaram a seleção como comportamentos deliberados de preferência ou evitação de determinadas condições no sentido de favorecer o sucesso reprodutivo individual. A escolha depende da abundância e qualidade relativa dos sítios, da capacidade de discriminação das fêmeas e da competição entre elas por locais de postura (Binckley & Resetarits Jr. 2003, Murphy 2003a, Rudolf & Rödel 2005). No geral, as fêmeas parecem reconhecer e discriminar diferenças sutis entre micro-ambientes similares (e.g., Kam et al. 1996, Rudolf & Rödel 2005, Ficetola et al. 2006, Haramura 2008, Lin & Kam 2008). No entanto, os mecanismos sensoriais que elas

Seleção de sítios de oviposição

Table 1. The major studies about oviposition site selection in anurans (Anura). The focal species, field/experimental conditions, factors that affect survival of eggs/tadpoles and authors' interpretation on female responses to these factors are presented for each publication. Updated and modified from Skelly (2001).

Tabela 1. Os principais estudos sobre seleção de sítios de oviposição em anuros (Anura). A espécie estudada, condições de campo e experimentais, fatores significativos que afetam a sobrevivência de ovos/girinos e interpretação dos autores em relação às respostas das fêmeas frente a esses fatores estão apresentados para cada publicação. Atualizado e modificado de Skelly (2001).

Fonte	Espécie	Condições	Fatores analisados	Interpretação
Resetarits Jr. & Wilbur (1989)	<i>Hyla chrysoscelis</i>	Poças artificiais (plásticas)	Girinos co-específicos, teleósteos, larvas de salamandra, girinos heteroespecíficos, salamandras adultas e insetos	Evitar competição Evitar predação Nenhum efeito
Crump (1991)	<i>Isthmohyla pseudopuma</i>	Poças artificiais	Girinos coespecíficos canibais, profundidade da poça	Evitar predação Evitar dessecação
Hopey & Petranks (1994)	<i>Lithobates sylvaticus</i>	Poças escavadas (campo)	Teleósteos predadores de ovos	Evitar predação
Petranks et al. (1994)	<i>Anaxyrus americanus</i>	Poças escavadas	Girinos heteroespecíficos predadores de ovos e girinos	Evitar predação
Laurila & Aho (1997)	<i>Rana temporaria</i>	Poças em hábitat natural	Teleósteos predadores de girinos	Nenhum efeito
Spieler & Linsenmair (1997)	<i>Hoplobatrachus occipitalis</i>	Poças em hábitat natural	Girinos co-específicos canibais, teleósteos, estabilidade hídrica da poça	Evitar predação Evitar dessecação
Fegraus & Marsh (2000)	<i>Engystomops pustulosus</i>	Poças artificiais	Idade da poça e propriedades físico-químicas da água	Nenhum efeito
Kiesecker & Skelly (2000)	<i>Hyla versicolor</i>	Poças artificiais	Caramujos infectados com trematódeos parasitas	Evitar parasitismo girinos
Marsh & Borrel (2001)	<i>Engystomops pustulosus</i>	Poças artificiais Riacho natural	Presença de ninhos e girinos co-específicos na poça	Evitar coespecíficos Preferência pela presença de coespecíficos
Binckley & Resetarits Jr. (2002)	<i>Hyla squirella</i>	Poças artificiais	Teleósteos predadores de ovos	Evitar predação
Binckley & Resetarits Jr. (2003)	<i>Hyla chrysoscelis</i>	Poças artificiais	Teleósteos predadores de ovos	Evitar predação
Murphy (2003a)	<i>Edalorhina perezi</i>	Poças em hábitat natural	Estabilidade hídrica da poça, náíades de Odonata predadoras de girinos, presença de ninhos e girinos co-específicos na poça	Evitar dessecação Evitar predação Evitar competição
Murphy (2003b)	<i>Edalorhina perezi</i>	Poças artificiais	Náíades de Odonata e presença de girinos co-específicos	Evitar predação Evitar competição
Rieger et al. (2004)	<i>Hyla femoralis</i>	Poças artificiais	Teleósteos predadores de girinos	Evitar predação
Rudolf & Rödel (2005)	<i>Phrynobatrachus guineensis</i>	Hábitat natural Experimentos (campo)	Estabilidade hídrica da poça e presença de girinos co-específicos	Evitar dessecação Preferência pela presença de coespecíficos

utilizam para discriminar as condições de sítios potenciais de oviposição ainda são praticamente desconhecidos. Spieler & Linsenmair (1997) sugeriram que fêmeas de *Hoplobatrachus occipitalis* (Gunther, 1858) (Dicroglossidae) avaliam a presença, densidade e tamanho de girinos coespecíficos através do olfato.

Estudos de Caso

Fêmeas de *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) (Ranidae) preferem desovar em sítios defendidos por machos maiores, onde seus embriões se desenvolvem mais rapidamente (água mais quente) e são menos atacados por sanguessugas. Portanto, a territorialidade parece estar relacionada ao domínio de locais de postura de maior

qualidade e a predação por sanguessugas deve ser a principal pressão no processo de escolha (Howard 1978).

Lithobates sylvaticus (LeConte, 1825) desova comunalmente e prefere poças maiores e micro-ambientes com água mais quente, provavelmente porque essas condições aceleram o desenvolvimento dos girinos e reduzem os riscos de dessecação (Seale 1982). *Lithobates sphenoccephalus* (Cope, 1886) apresenta desovas comunais apenas na estação fria (Caldwell 1986). Portanto, desova comunal deve conferir um micro-ambiente termicamente favorável aos ovos (e.g., acelerar o desenvolvimento) de espécies de *Lithobates* que se reproduzem em poças temporárias em regiões frias (Caldwell 1986).

Em condições experimentais, Zina (2006) observou que fêmeas de *Engystomops pustulosus* (Cope, 1864) (Leiuperidae) preferem

desovar comunalmente, o que parece reduzir os riscos de dessecação de ovos e girinos. Desovas comuais ocorrem em outras espécies de Leiuperidae (e.g., *Eupemphix nattereri* Steindachner, 1863, *Physalaemus marmoratus* (Reinhardt e Lutken, 1862)), porém, ainda não foi demonstrado se este fenômeno é gerado pelo comportamento de escolha efetiva das fêmeas. Outra distinção importante seria determinar se desovas comuais ocorrem porque as fêmeas preferem desovar em sítios já ocupados por desovas coespecíficas ou representam apenas um efeito colateral da escolha de sítios de maior qualidade por várias fêmeas com base em outros fatores ambientais (Giaretta & Menin 2004, Giaretta & Facure 2006). Portanto, estudos adicionais serão necessários para comprovar se este fenômeno é gerado pelo comportamento de escolha efetiva das fêmeas e quais as vantagens e desvantagens associadas.

Lithobates sylvaticus e *L. palustris* (LeConte, 1825) preferem habitats sem peixes (Hopey & Petranka 1994, Holomuzki 1995), porém *Rana temporaria* (Ranidae) parece não evitar a presença de larvas de insetos ou peixes predadores de seus girinos (Laurila & Aho 1997, Laurila 1998). Em *R. japonica* Boulenger, 1879, a escolha de locais de postura parece envolver um balanço entre tamanho do corpo d'água e competição intra-específica. Entre poças pequenas, as fêmeas evitam aquelas com ovos e girinos coespecíficos, o que não ocorre entre poças maiores (Matsushima & Kawata 2005).

Bufo bufo (Linnaeus, 1758) e *Epidalea calamita* (Laurenti, 1768) (Bufonidae) preferem poças maiores apesar de conterem peixes predadores, provavelmente porque seus girinos são impalatáveis (Banks & Beebe 1987, Laurila 1998). No entanto, *Anaxyrus americanus* (Holbrook, 1836) (Bufonidae) escolhe poças mais efêmeras, porém sem peixes (Holomuzki 1995), e evitam também girinos de *Lithobates sylvaticus*, os quais são predadores de seus ovos e girinos (Petranka et al. 1994). Em *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758) (Bufonidae), características estruturais e físico-químicas do corpo d'água parecem ser mais importantes que a presença de insetos e peixes predadores no processo de escolha. Poças temporárias, rasas, menos ácidas, com água transparente e sem vegetação marginal são preferidas, provavelmente porque essas condições aceleram o desenvolvimento dos girinos (Evan et al. 1996, Hagman & Shine 2006).

Os hilídeos (Hylidae) serviram de modelo em estudos experimentais. Em geral, os testes demonstraram que as fêmeas são realmente capazes de selecionar sítios de oviposição mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento de seus ovos e girinos. Nos experimentos, *Hyla chrysoscelis* Cope, 1880, *H. squirella* Bosc in Daudin, 1800 e *H. femoralis* Bosc in Daudin, 1800 (Hylidae) evitaram poças com peixes, distribuindo a maioria (até 95%) de suas desovas em situação-controle (sem peixes). Como tendência geral, as fêmeas parecem não discriminar entre níveis contínuos de densidade desses predadores, mas apenas as condições de presença ou ausência, as quais produzem diferenças significativas na sobrevivência dos girinos (Resetarits-Jr. & Wilbur 1989, Binckley & Resetarits-Jr. 2002, 2003, Rieger et al. 2004).

As fêmeas de espécies de Hylidae respondem a outros fatores adversos além da predação por peixes. Por exemplo, *Isthmohyla pseudopuma* (Gunther, 1901) reduz os riscos de canibalismo e dessecação ao preferir poças mais profundas e sem girinos coespecíficos. A escolha resulta de um balanço, porque, no início da noite, poças profundas são favorecidas, porém quando elas se saturam de ovos, a preferência muda para poças rasas com menos ovos (Crump 1991). Fêmeas de *H. versicolor* LeConte, 1825 reconhecem a presença de caramujos portadores de trematódeos parasitas e escolhem poças sem esses moluscos ou com poucos indivíduos não infectados, reduzindo, assim, os riscos de parasitismo de seus girinos (Kiesecker & Skelly 2000).

Os autores desses estudos experimentais com os hilídeos ressaltam que a seleção de sítios de oviposição pode influenciar na dinâmica de populações e na estrutura de comunidades, promovendo, por exemplo, a segregação de habitat entre espécies competidoras ou entre espécies-presa e seus predadores. Assim, a ausência de uma espécie num determinado local pode ser atribuída não somente a efeitos diretos (mortalidade) da dessecação, competição, parasitismo ou predação, mas também, ao comportamento de evitação da fêmea a esses fatores adversos (Resetarits-Jr. & Wilbur 1989, Crump 1991, Hopey & Petranka 1994, Kiesecker & Skelly 2000, Binckley & Resetarits-Jr. 2002, 2003, Rieger et al. 2004, Resetarits Jr. 2005).

Alguns pesquisadores analisaram a seleção de sítios de oviposição em ambiente natural associando experimentos de manipulação das condições locais (e.g., Spieler & Linsenmair 1997, Marsh & Borrell 2001, Murphy 2003a, b, Rudolf & Rödel 2005). Espécies que põem seus ovos em ninhos de espuma flutuantes (muitas espécies de Leiuperidae e Leptodactylidae) foram utilizadas como modelo em alguns desses estudos (e.g., Halloy & Fiaño 2000, Marsh & Borrell 2001, Murphy 2003a, b). Os autores investigaram se as escolhas dos parentais refletiam os principais riscos à sobrevivência dos ovos e girinos. Os experimentos testavam se havia evidência de relação causal entre os fatores analisados e as respostas das fêmeas. Em geral, esses estudos (detalhados logo abaixo) demonstraram que a seleção envolve um balanço entre fatores físicos e bióticos e que os parentais podem adotar diferentes estratégias em resposta a variações ambientais nas escalas espacial e temporal (e.g., variação sazonal na densidade de predadores, riscos de dessecação), embora as escolhas nem sempre assegurem proteção absoluta aos ovos e girinos (Spieler & Linsenmair 1997, Marsh & Borrell 2001, Murphy 2003a, b). Fatores de mortalidade de ovos e larvas, tais como dessecação e predação, causam maior impacto no sucesso reprodutivo dos parentais comparado à competição ou características estruturais e físico-químicas do corpo d'água. Portanto, é provável que fatores de mortalidade direta sejam as principais pressões sobre a evolução de mecanismos sensoriais que permitam acessar a qualidade do ambiente de reprodução (Spieler & Linsenmair 1997, Murphy 2003a, b, Rudolf & Rödel 2005).

A idade da poça e propriedades químicas da água não influenciam na escolha de sítios por *Engystomops pustulosus* (Leiuperidae) (Fegraus & Marsh 2000). Em experimentos, os parentais evitam poças com ninhos e girinos coespecíficos, porém, em riachos naturais, poças ocupadas por coespecíficos são selecionadas, provavelmente porque estes indicam condições favoráveis (Dillon & Fiaño 2000, Marsh et al. 2000, Marsh & Borrell 2001). Como o aumento da densidade retarda o crescimento dos girinos, a evitação de coespecíficos pode ser uma estratégia vantajosa em experimentos cujo contexto homogêneo não oferece outros fatores adversos a serem considerados pela fêmea. No riacho, a aparente preferência por sítios ocupados provavelmente representa uma resposta à qualidade do habitat e não à presença de coespecíficos, visto que poças maiores e com mais folhas são as mais utilizadas. Portanto, a seleção de sítios de oviposição nesta espécie envolve um balanço entre fatores físicos e bióticos e os parentais podem adotar estratégias opostas em função do contexto ecológico (Marsh & Borrell 2001).

A dessecação e predação por larvas de insetos são as principais ameaças ao sucesso reprodutivo de *Edalorhina perezii* Jimenez de la Espada, 1870 (Leiuperidae) em seu habitat natural (Murphy 2003a). Os adultos respondem parcialmente a esses fatores na distribuição de suas desovas no ambiente. Por exemplo, poças recém-formadas logo após a incidência de chuvas possuem menos insetos predadores (e.g., náíades de Odonata) e são ativamente selecionadas como sítios de vocalização e oviposição. Até meados da estação chuvosa, as fêmeas

escolhem poças com maior persistência hídrica, porém, no final, poças efêmeras são as mais utilizadas apesar de oferecerem maiores riscos de dessecação. A presença de coespecíficos retarda o crescimento dos girinos, aumentando os riscos de morte por dessecação, porém, a competição intra-específica parece ser secundária na seleção em relação à predação (Murphy 2003a).

Em experimentos conduzidos no campo, os adultos de *E. perezii* também escolhem poças sem insetos predadores como sítios de vocalização e oviposição, mas as fêmeas são mais seletivas e evitam também girinos coespecíficos (Murphy 2003b). Ambos os sexos preferem tratamentos com os riscos de competição intra-específica em vez de predação, resposta condizente com o maior impacto da predação na sobrevivência dos ovos e girinos em condições naturais (Murphy 2003a, b). As escolhas das fêmeas exibem variação sazonal, porque, no início da estação chuvosa, elas evitam poças com predadores, mas no final não, provavelmente porque a densidade delas diminui no decorrer da estação ou porque elas tornam-se menos seletivas em razão da aproximação do final do período reprodutivo. No entanto, o esclarecimento deste fenômeno requer mais estudos. As fêmeas podem atrasar a postura quando todos os tratamentos oferecem riscos (competição/ predação) (Murphy 2003b). Esse atraso pode ser vantajoso, porque eventos de secagem completa do corpo d'água eliminam coespecíficos e predadores aquáticos, tornando as poças recém-formadas mais favoráveis à oviposição (Murphy 2003a). Portanto, as escolhas das fêmeas de *E. perezii* respondem parcialmente aos principais riscos à sobrevivência de sua prole e se ajustam a variações ambientais nas escalas espacial e temporal, mas essa capacidade de resposta é limitada e, frequentemente, resulta em perdas parciais ou totais de desovas e girinos (Murphy 2003a, b).

Dessecação e canibalismo são os principais riscos à sobrevivência de girinos de *Hoplobatrachus occipitalis* (Dicroglossidae). A seleção de sítios de oviposição nesta espécie reflete esses riscos, porque as fêmeas escolhem poças mais persistentes e sem ovos ou girinos coespecíficos. Em experimentos no ambiente natural, elas são capazes de reconhecer também diferenças na densidade e classes de tamanho de girinos co-específicos, porque poças com menores densidades ou aquelas com girinos menores são escolhidas. Provavelmente, elas analisam a estabilidade das poças monitorando a redução no volume de água em visitas consecutivas. Como os experimentos excluíam a possibilidade de avaliações táteis e visuais (tela protetora), é provável então que as fêmeas reconhecessem a presença, densidade e tamanho dos girinos usando o olfato (Spieler & Linsenmair 1997).

Phrynobatrachus guineensis Guibe e Lamotte, 1962 (Phrynobatrachidae) desova em fitotelmatas ou conchas vazias de moluscos. Os adultos selecionam sítios para vocalização e oviposição com maior capacidade de retenção de água, reduzindo, assim, os riscos de dessecação dos girinos. Provavelmente, eles monitoram a redução no volume de água em visitas consecutivas antes da escolha definitiva. No entanto, muitos sítios com estabilidade hídrica favorável à oviposição não são utilizados, porque as fêmeas preferem aqueles já ocupados por ovos e girinos coespecíficos, os quais devem indicar ausência ou baixa densidade de predadores. Portanto, a seleção de sítios de oviposição em *P. guineensis* envolve um balanço entre fatores abióticos e bióticos. A estabilidade hídrica define inicialmente sítios propícios à oviposição, enquanto que a presença de coespecíficos explica as diferenças na frequência de uso dentre esses sítios inicialmente favoráveis (Rudolf & Rödel 2005).

Conclusões Gerais

Neste tópico, destacamos alguns padrões gerais da seleção de sítios de oviposição e apresentamos ao final algumas questões com

potencial para serem exploradas em estudos futuros. A seleção efetiva de sítios de oviposição ocorre em espécies de anuros de diferentes grupos e em habitats variados e, provavelmente, evoluiu em resposta a pressões seletivas diversas (ver Tabela 1). Em geral, os parentais possuem a capacidade de reconhecer, discriminar e selecionar micro-sítios mais favoráveis à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos, procurando maximizar, portanto, o sucesso reprodutivo individual. A seleção é realizada essencialmente pelas fêmeas, mas, em algumas espécies (e.g., *Edalorhina perezii*, *Lithobates catesbeianus*, *Phrynobatrachus guineensis*), os machos também participam do processo ao escolherem sítios de vocalização com condições favoráveis à oviposição (e.g., predadores ausentes), porém, mesmo nestes casos, eles são menos seletivos (e.g., indiferentes à presença de girinos coespecíficos).

No ambiente natural, a seleção de sítios de oviposição ocorre em contexto ecológico heterogêneo, variável no tempo e no espaço e envolve um balanço entre fatores abióticos e bióticos. Os fatores que causam mortalidade direta dos ovos e girinos, tais como dessecação e predação, parecem ter maior impacto no processo de escolha em comparação a outros fatores como, competição ou características estruturais e físico-químicas do corpo d'água.

De maneira geral, as escolhas das fêmeas refletem os principais riscos à sobrevivência e desenvolvimento dos ovos e girinos, normalmente apresentam flexibilidade em função do contexto ecológico e promovem um aumento potencial do sucesso reprodutivo. No entanto, as escolhas apresentam eficiência relativa e não são raros os eventos de perda parcial ou total de desovas e girinos.

Além de afetar o sucesso reprodutivo dos parentais, a seleção de sítios de oviposição tem potencial para influenciar a dinâmica de populações e a estrutura de comunidades ao promover a segregação ou co-ocorrência de determinadas espécies. Portanto, é importante considerar esse comportamento em estudos de ecologia de populações e comunidades.

Desovas comunais ocorrem em algumas espécies das famílias Ranidae (e.g., *Lithobates sylvaticus*, *L. sphenoccephalus*) e Leiuperidae (e.g., *Eupemphix nattereri*), porém, ainda não foi demonstrado se este fenômeno é gerado pelo comportamento de escolha efetiva das fêmeas.

Um aspecto ainda pouco explorado refere-se aos mecanismos sensoriais que as fêmeas utilizam para reconhecer e discriminar as condições do ambiente de reprodução. Novamente, os anuros podem servir de modelo para esclarecer a evolução desses mecanismos que possibilitam aos organismos selecionarem sítios de oviposição mais favoráveis ao seu sucesso reprodutivo.

Os anuros têm sido amplamente utilizados como modelo em estudos sobre seleção de sítios de oviposição. No entanto, espécies com desova terrestre e girinos aquáticos ainda não foram devidamente exploradas, o que seria pertinente uma vez que as fases iniciais do desenvolvimento ocorrem em ambientes totalmente diferentes daqueles onde os girinos se desenvolvem. Considerando as diferenças entre os ambientes terrestre e aquático nos elementos abiótico e biótico, é provável então que as condições favoráveis para desovas terrestres e girinos aquáticos sejam de naturezas diversas, o que deve exigir das fêmeas critérios diferenciados no processo de escolha (e.g., micro-ambiente sombreado para desovas- proteção contra dessecação versus corpo d'água iluminado para os girinos- acelerar o desenvolvimento larval).

Agradecimentos

Suporte financeiro pela CAPES (WRS), FAPEMIG e CNPq (AAG).

Referências Bibliográficas

- BANKS, B. & BEEBEE, T.J.C. 1987. Factors influencing breeding site choice by the pioneering amphibian *Bufo calamita*. *Holarctic. Ecol.* 10(1):14-21.
- BERNARDO, J. 1996. Maternal effects in animal ecology. *Amer. Zool.* 36(2):83-105.
- BINCKLEY, C.A. & RESETARITS Jr., W.J. 2002. Reproductive decisions under threat of predation: squirrel treefrog (*Hyla squirella*) responses to banded sunfish (*Enneacanthus obesus*). *Oecologia* 130(1):157-161.
- BINCKLEY, C.A. & RESETARITS Jr., W.J. 2003. Functional equivalence of non-lethal effects: generalized fish avoidance determines distribution of gray treefrog, *Hyla chrysoscelis*, larvae. *Oikos* 102(3):623-629.
- CALDWELL, J.P. 1986. Selection of egg deposition sites: a seasonal shift in the southern leopard frog, *Rana sphenoccephala*. *Copeia* 1986(1):249-253.
- CRUMP, M.L. 1991. Choice of oviposition site and egg load assessment by a treefrog. *Herpetologica* 47(3):308-315.
- DILLON, M.E. & FIAÑO, J. 2000. Oviposition site selection by the túngara frog (*Physalaemus pustulosus*). *Copeia* 2000(3):883-885.
- DOUGHERTY, C.K., VAALA, D.A. & SMITH, G.R. 2005. Within-pond oviposition site selection in two spring-breeding amphibians (*Ambystoma maculatum* and *Rana sylvatica*). *J. Freshwater. Ecol.* 20(4):781-782.
- DUELLMAN, W.E. & TRUEB, L. 1994. *Biology of amphibians*. Johns Hopkins University, Baltimore.
- EVANS, M., YÁBER, C. & HERO, J.M. 1996. Factors influencing choice of breeding site by *Bufo marinus* in its natural habitat. *Copeia* 1996(4):904-912.
- FEIGRAUS, E.H. & MARSH, D.M. 2000. Are newer ponds better? Pond chemistry, oviposition site selection, and tadpole performance in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. *J. Herpetol.* 34(3):455-459.
- FICETOLA, G.F., VALOTA, M. & BERNARDI, F. 2006. Temporal variability of spawning site selection in the frog *Rana dalmatina*: consequences for habitat management. *Anim. Biodivers. Conserv.* 29(2):157-163.
- GIARETTA, A.A. & MENIN, M. 2004. Reproduction, phenology and mortality sources of a species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae). *J. Nat. Hist.* 38(13):1711-1722.
- GIARETTA, A.A. & FACURE, K.G. 2006. Terrestrial and communal nesting in *Eupemphix nattereri* (Anura, Leiuperidae): interactions with predators and pond structure. *J. Nat. Hist.* 40(44-46):2577-2587.
- GOLDBERG, F.J., QUINZIO, S. & VAIRA, M. 2006. Oviposition site selection by the toad *Melanophryniscus rubriventris* in an unpredictable environment in Argentina. *Can. J. Zool.* 84(5):699-705.
- HAGMAN, M. & SHINE, R. 2006. Spawning site selection by feral cane toads (*Bufo marinus*) at an invasion front in tropical Australia. *Austral. Ecol.* 31(5):551-558.
- HALLOY, M. & FIAÑO, J.M. 2000. Oviposition site selection in *Pleurodema borellii* (Anura, Leptodactylidae) may be influenced by tadpole presence. *Copeia* 2000(2):606-609.
- HALLOY, M. 2006. Choice of oviposition site in *Pleurodema borellii* (Leptodactylidae): importance of conspecific tadpole size. *S. Am. J. Herpetol.* 1(1):72-78.
- HARAMURA, T. 2008. Experimental test of spawning site selection by *Buergeria japonica* (Anura: Rhacophoridae) in response to salinity level. *Copeia* 2008(1):64-67.
- HOLOMUZKI, J.R. 1995. Oviposition sites and fish-deterrent mechanisms to two stream anurans. *Copeia* 1995(3):607-613.
- HOPEY, M.E. & PETRANKA, J.W. 1994. Restriction of wood frogs to fish-free habitats: how important is adult choice? *Copeia* 1994(4):1023-1025.
- HOWARD, R.D. 1978. The influence of male defended oviposition sites on early embryo mortality in bullfrogs. *Ecology* 59(4):789-798.
- KAM, Y.C., CHUANG, Z.S. & YEN, C.F. 1996. Reproduction, oviposition site selection, and tadpole oophagy of an arboreal nester, *Chirixalus eiffingeri* (Rhacophoridae), from Taiwan. *J. Herpetol.* 30(1):52-59.
- KIESECKER, J.M. & SKELLY, D.K. 2000. Choice of oviposition site by gray treefrogs: the role of potential parasitic infection. *Ecology* 81(10):2939-2943.
- LAURILA, A. & AHO, T. 1997. Do female common frogs choose their breeding habitat to avoid predation on tadpoles? *Oikos* 78(3):585-591.
- LAURILA, A. 1998. Breeding habitat selection and larval performance of two anurans in freshwater rock-pools. *Ecography* 21(5):484-494.
- LIN, Y.S. & KAM, Y.C. 2008. Nest choice and breeding phenology of an arboreal breeding frog, *Kurixalus eiffingeri* (Rhacophoridae), in a bamboo forest. *Zool. stud.* 47(2):129-137.
- MARSH, D.M., RAND, A.S. & RYAN, M.J. 2000. Effects of inter-pond distance on the breeding ecology of túngara frogs. *Oecologia* 122(4):505-513.
- MARSH, D.M. & BORRELL, B.J. 2001. Flexible oviposition strategies in túngara frogs and their implications for tadpole spatial distributions. *Oikos* 93(1):101-109.
- MATSUSHIMA, N. & KAWATA, M. 2005. The choice of oviposition site and the effects of density and oviposition timing on survivorship in *Rana japonica*. *Ecol. Res.* 20(1):81-86.
- MITCHELL, N.J. 2002. Nest-site selection in a terrestrially breeding frog with protracted development. *Aust. J. Zool.* 50(3):225-235.
- MORRIS, D.W. 2003. Toward an ecological synthesis: a case for habitat selection. *Oecologia* 136(1):1-13.
- MOUSSEAU, T.A. & FOX, C.W. 1998. The adaptive significance of maternal effects. *Tree* 13(10):403-407.
- MURPHY, P.J. 2003a. Does reproductive site choice in a Neotropical frog mirror variable risks facing offspring? *Ecol. Monogr.* 73(1):45-67.
- MURPHY, P.J. 2003b. Context-dependent reproductive site choice in a Neotropical frog. *Behav. Ecol.* 14(5):626-633.
- PETRANKA, J.W., HOPEY, M.E., JENNINGS, B.T., BAIRD, S.D. & BOONE, S.J. 1994. Breeding habitat segregation of wood frogs and American toads: the role of interspecific tadpole predation and adult choice. *Copeia* 1994(3):691-697.
- RESETARITS Jr., W.J. & WILBUR, H.M. 1989. Choice of oviposition site by *Hyla chrysoscelis*: role of predators and competitors. *Ecology* 70(1):220-228.
- RESETARITS Jr., W.J. 1996. Oviposition site choice and life history evolution. *Amer. Zool.* 36(2):205-215.
- RESETARITS Jr., W.J. 2005. Habitat selection behavior links local and regional scales in aquatic systems. *Ecol. Lett.* 8(5):480-486.
- RIEGER, J.F., BINCKLEY, C.A. & RESETARITS Jr., W.J. 2004. Larval performance and oviposition site preference along a predation gradient. *Ecology* 85(8):2094-2099.
- RUDOLF, V.H.W. & RÖDEL, M.O. 2005. Oviposition site selection in a complex and variable environment: the role of habitat quality and conspecific cues. *Oecologia* 142(2):316-325.
- SEALE, D.B. 1982. Physical factors influencing oviposition by the woodfrog, *Rana sylvatica*, in Pennsylvania. *Copeia* 1982(3):627-635.
- SKELLY, D.K. 2001. Distributions of pond-breeding anurans: an overview of mechanisms. *Israel. J. Zool.* 47:313-332.
- SPIELER, M. & LINSSENMAIR, K.E. 1997. Choice of optimal oviposition sites by *Hoplobatrachus occipitalis* (Anura, Ranidae) in an unpredictable and patchy environment. *Oecologia* 109(2):184-199.
- ZINA, J. 2006. Communal nests in *Physalaemus pustulosus* (Amphibia: Leptodactylidae): experimental evidence for female oviposition preferences and protection against desiccation. *Amphibia-Reptilia* 27(1):148-150.

Recebido em 09/07/08

Versão reformulada recebida em 29/08/08

Publicado em 16/09/08

This article was downloaded by: [informa internal users]

On: 9 March 2009

Access details: Access Details: [subscription number 755239602]

Publisher Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Journal of Natural History

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713192031>

On the natural history of *Leptodactylus syphax* with comments on the evolution of reproductive features in the *L. pentadactylus* species group (Anura, Leptodactylidae)

Wagner R. da Silva ^a; Ariovaldo A. Giarretta ^a

^a Laboratório de Taxonomia, Ecologia Comportamental e Sistemática de Anuros Neotropicais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brazil

Online Publication Date: 01 January 2009

To cite this Article da Silva, Wagner R. and Giarretta, Ariovaldo A. (2009) 'On the natural history of *Leptodactylus syphax* with comments on the evolution of reproductive features in the *L. pentadactylus* species group (Anura, Leptodactylidae)', *Journal of Natural History*, 43:3, 191 — 203

To link to this Article: DOI: 10.1080/00222930802484618

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/00222930802484618>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

On the natural history of *Leptodactylus syphax* with comments on the evolution of reproductive features in the *L. pentadactylus* species group (Anura, Leptodactylidae)

Wagner R. da Silva* and Ariovaldo A. Giaretta

Laboratório de Taxonomia, Ecologia Comportamental e Sistemática de Anuros Neotropicais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brazil

(Received 18 August 2008; final version received 17 September 2008)

We describe the reproduction of *Leptodactylus syphax* from Brazil and attempt to trace the evolution of reproductive traits within the *L. pentadactylus* species group. We quantified the proportion of eggs/embryos from fresh nests. We test whether *L. labyrinthicus* and *L. syphax* tadpoles can prey on eggs from heterospecific foam nests. Egg clutches were found outside the water at the edges of rocky/seasonal streams, usually within excavated basins. Males beat the foam with their legs moving from side to side. Clutches do not have trophic eggs, since most of their eggs develop into tadpoles. Tadpoles cling on rocks in current/shallow waters. Only *L. labyrinthicus* tadpoles could prey on eggs from heterospecific foam nests. If the *L. pentadactylus* group is monophyletic, excavated basins and foam-beating in lateral motions may be possible synapomorphies of this group. However, large adults, carnivorous tadpoles and trophic eggs appear to be associated synapomorphies of a less inclusive group.

Keywords: Central South America; excavated basin; trophic eggs; lotic tadpole; carnivorous tadpole

Introduction

Neotropical frogs of the genus *Leptodactylus* (Leptodactylidae) seem to form a monophyletic group (Ponssa 2008) and have been divided into five species groups based on morphology and behaviour (Heyer 1969a, 1978, 1979; Ponssa 2008). Currently, the *Leptodactylus pentadactylus* group (*sensu* Heyer 1979, 2005) includes 19 mid- to large-sized [about 70–160 mm snout–vent length (SVL)] species. Morphological synapomorphies supporting this group have been reported (Ponssa 2008), and some internal phylogenetic resolution among its members has also been proposed (Heyer 1979; Maxson and Heyer 1988; Larson and de Sá 1998; Ponssa 2008).

Within the *L. pentadactylus* species group at least two reproductive modes are recognized (Prado et al. 2002). Foam nests of *L. fallax* Müller, 1926 are built in burrows or cavities not associated with water bodies; the female protects the nest and periodically feeds her tadpoles with trophic (unfertilized) eggs until they complete their larval development (Lescure and Letellier 1983; Kaiser 1994; Davis et al. 2000; Gibson and Buley 2004). Egg clutches of *L. pentadactylus* (Laurenti, 1768) are also deposited in excavated burrows far from water and the tadpoles develop entirely in

*Corresponding author. Email: wagnerdrigues@yahoo.com.br

the nest, but maternal care has not been reported for this species (Hero and Galatti 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Lima et al. 2006).

Leptodactylus labyrinthicus (Spix, 1824) illustrates the second mode in which foam nests are built in shallow basins dug by the adults close to water bodies and there is no care. Tadpoles initially grow in the nest through consumption of trophic (undeveloped/unfertilized?) eggs, but complete their development in the water (Prado et al. 2005; Shepard and Caldwell 2005; Silva et al. 2005; Zina and Haddad 2005; Silva and Giaretta 2008). Post-nestling, free-swimming tadpoles prey upon heterospecific hatchlings and anuran eggs, even those embedded in heterospecific foam nests, a behaviour probably related to their carnivorous morphology (i.e. long muscular tail, anterior mouth) (Heyer 1979; Silva et al. 2005; Silva and Giaretta 2008). Foam nests in excavated basins beside the water and aquatic tadpoles are also known in *L. knudseni* Heyer, 1972, *L. savagei*, *L. turimiquensis* Heyer, 2005 and *L. vastus* A. Lutz, 1930. Trophic eggs have not been reported for all these species, but it is known that tadpoles of *L. knudseni* and *L. savagei* are oophagous and eat eggs in their own nests (Rivero and Esteves 1969; Muedeking and Heyer 1976; Hero and Galatti 1990; Gascon 1991; Hödl 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Lima et al. 2006; Vieira et al. 2007).

Leptodactylus syphax Bokermann, 1969 is found in open rocky fields from Brazil, Bolivia and Paraguay (Heyer 1979; Frost 2007; Giaretta et al. 2008). Its advertisement call is known (Cardoso and Heyer 1995; Silva et al. 2008) and reciprocation calls produced by females have also been reported (Silva et al. 2008). The tadpoles have a generalized exotrophic–benthic morphology (*sensu* Altig and Johnston 1989) and develop in seasonal or permanent rocky streams (Eterovick and Sazima 2000). The species is thought to lay eggs in floating foam nests (Eterovick and Sazima 2000). Along with *L. syphax*, those other species associated with rocky and lotic habitats (*L. lithonaetes*, *L. myersi* Heyer 1995, *L. rugosus* Noble, 1923) may form a monophyletic subgroup (Heyer 1979, 1995), but details on the breeding behaviour that could help to support this hypothesis are not available for any of these species.

In this paper we present details on the natural history, with special attention given to the reproduction of *L. syphax* from three localities in Central and Southeastern Brazil. We describe details of its habitat, reproductive mode, breeding season, foam nest construction behaviour, proportion of fertilized eggs in the clutches, tadpole foam-making behaviour, and mortality sources of eggs and tadpoles. The ability of *L. labyrinthicus* and *L. syphax* tadpoles to feed on eggs from heterospecific foam nests was compared experimentally. We also address the evolution of reproductive features within the whole *L. pentadactylus* species group such as basin-building behaviour, lotic tadpoles, tadpole carnivory and trophic eggs.

Material and methods

We carried out the present study in three areas: the steep banks of the Paranaíba River valley (18°29'S, 48°30'W; 550 m altitude), at the Municipality of Araguari (Minas Gerais State); Serra do Cipó (19°12'S, 43°30'W; 1100 m), Municipality of Santana do Riacho (Minas Gerais); and Parque Estadual da Serra de Caldas (17°43'S, 48°40'W; 900 m), Municipality of Caldas Novas (Goiás State). All these localities are in the Brazilian Cerrado Biome (Oliveira and Marquis 2002), mainly in

hills with steep terrain and rocky grasslands with scattered scrubs/small trees and areas covered by narrow forests along permanent or seasonal streams. The wet/hot season is from September to April and the dry/mild season is from May to August; the annual mean precipitation is around 1500 mm (Oliveira and Marquis 2002; Eterovick and Sazima 2004; Giaretta et al. 2008).

We visited the Serra do Cipó once (December 2005) and conducted regular visits (1–4 per month) between September and February (2004–2007) to Araguari and Caldas Novas. Most of the regularly gathered data were collected along four seasonal rocky streams (130–480 m length; <6 m width) and in a swampy gravel patch (15,000 m²) drained by two narrow seasonal creeks (30–80 cm width; <40 cm deep). Calling males were referenced using a global positioning satellite system during the evening and foam nests were sought around these sites.

Males and females were compared in relation to their body size (SVL), weight, forearm diameter and presence/absence of nuptial spines. Differences between averages were evaluated through *t*-tests and, within a sex, the relationship between SVL and forearm diameter, through a Pearson correlation test (Zar 1999). Adult status was determined based on male calling behaviour and on the smallest female bearing oviducal eggs. Sizes were measured with callipers (0.02 mm) and weight was measured with a Pesola spring.

We described egg-laying and foam-beating behaviour by focally observing an amplexant pair. To determine if *L. syphax* had trophic eggs, we quantified the proportion of early-stage tadpoles (<13 mm total length; stage 19) in clutches preserved (in 10% formalin) 4–5 days after deposition; these clutches were protected with fine (1-mm) mesh to avoid egg death/consumption by predatory fly maggots (cf. Menin and Giaretta 2003). Around the 5th day the tadpoles still had incomplete mouthparts and the guts were full of yolk, so they could not have ingested conspecific eggs at this stage. To test whether nestling tadpoles could generate foam on their own (as described for *L. labyrinthicus*; Kokubum and Giaretta 2005), two groups of 100 individuals [<15 mm total length (TL); stage 21; *n*=2 nests] were carefully washed to remove the parental foam and then transferred to moist plastic tubes (25 ml) for 4 h. These tests were conducted in the shade, under natural conditions of illumination and temperature (29°C), and were considered positive if the tadpoles produced enough foam to freely swim around. Tadpoles were staged following Gosner (1960).

To determine if post-nestling/free-swimming tadpoles of *L. labyrinthicus* and *L. syphax* could remove and prey on eggs embedded in heterospecific foam nests, we provided them with either eggs removed from the foam or whole nests of *Eupemphix nattereri* Steindachner, 1863 (Anura, Leiuperidae). In the first experiment, 20 eggs (1.6-mm diameter) were offered to 10 groups of three tadpoles in plastic containers (2 l), each filled with 1 litre of water (23°C) and covered by a fine mesh. In the second, one nest was given to each group of three tadpoles in containers with different depths of water: either shallow (12-mm deep), where the bottom could be used as a support to enter the foam or deep (95 mm), where the nests floated far from the bottom. Five replications were conducted for each condition and species. The tadpoles were preserved (in 5% formalin) after the second test for laboratory gut content analysis. We carried out both tests at night for 2 h. The same tadpoles of *L. syphax* (23–41 mm TL; stage 25–39; *n*=30) and of *L. labyrinthicus* (30–42 mm TL; stage 25–31; *n*=30) were used in both experiments, but they were starved for 3 days

before each test. We also analysed the gut contents of *L. syphax* tadpoles ($n=29$) found in two ponds with nests of *E. nattereri*.

Two snakes found in *L. syphax* nests were preserved (in 10% formalin) for gut content analysis. Flies (Diptera) visiting foam nests were preserved (70% alcohol) for identification; maggots removed from preserved nests were counted. The size (SVL) of newly metamorphosed froglets was determined based on late-stage tadpoles (stage 40–42) collected in the field and then kept in the laboratory (in shade, 29°C) until metamorphosis.

Voucher specimens (adults, clutches and tadpoles) are in the frog collection of the Museu de Biodiversidade do Cerrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil (AAG-UFU 3112; 3115).

Results

The body size (SVL) of males (mean=71.7 mm; SD=5.8; range=58.7–82; $n=15$) did not significantly differ ($t=1.51$; $df=23$; $p=0.14$) from that of females (mean=74.7 mm; SD=3.2; range=69.5–79.5; $n=10$). The mass of males (mean=43.6 g; SD=11.4; range=20–55; $n=7$) and females (mean=51 g; SD=8.2; range=40–60; $n=5$) did not differ ($t=1.23$; $df=10$; $p=0.24$) either. The forearms of males (mean=12.6 mm diameter; SD=2.6; range=7.0–16.5; $n=15$) were hypertrophied compared to those of females (mean=6.2 mm; SD=0.72; range=5.1–7.6; $n=10$), the difference being statistically significant ($t=-7.48$; $df=23$; $P<0.001$). Among males there was a positive correlation between SVL and forearm diameter ($r=0.69$; $df=13$; $p=0.004$; $n=15$), but among females this relationship was not significant ($r=0.02$; $df=8$; $p=0.95$; $n=10$). Males had one or two black sharp spines on each thumb and one tricuspid black spine on each side of the chest. Newly-metamorphosed froglets averaged 16 mm in SVL (SD=1.7; range=14.6–17.8; $n=4$).

The reproductive activity (vocalization/spawning) started before (up to 20 days) the first rains of September and the latest foam nest was found in late December ($n=4$ years). The males called exposed on the ground ($n=7$) or in rock crevices ($n=19$) along streams or rivulets, about 0–30 m from the water. Vocalization normally started 1–2 h before sundown (18:30 hours) and could extend beyond sunrise (6:30 hours). Distances between neighbouring calling males generally ranged between 5–50 m ($n=25$). Calling and spawning mainly occurred along seasonal streams in rocky hills (steep terrain). In the wet season, these water bodies flow intermittently and stagnant shallow bed-pools (6–120 cm deep) occupied by tadpoles often dried up because of droughts (up to 35 days without rain). Some tadpoles ($n=20$) were also found in permanent streams (Caldas Novas). Egg-laying sites were mainly covered by open grass-like vegetation ($n=30$ nests) or shaded by short (<4 m tall) scrubs and trees ($n=14$ nests). The nests were deposited amidst grasses (<90 cm height) ($n=22$), completely hidden under leaf-litter ($n=15$), in rocky crevices ($n=8$) or directly exposed to sun ($n=7$). Foam nests were often found around calling sites (0–150 cm distance; $n=10$). Distances between neighbouring nests averaged 2.5 m (SD=1.9; range=0–7; $n=15$).

The basins/foam nests were always isolated, but close to main water bodies (mean=74; SD=82; range=3.5–280 cm distance; $n=35$); egg clutches ($n=22$) from the beginning of the rainy season were often placed in sites where there would be running water later in the season. More often, egg clutches were circumscribed in

excavated basins ($n=29$), but they could be anchored in spaces between stones as well ($n=23$). In swampy gravel patches, the basins had well-defined rims ($n=22$), but in rocky outcrops they could have just a discrete border of mud or no rim at all. Well-defined basins ($n=14$) were almost circular and averaged 144 mm (SD=24; range=99–190) across their longest diameter (shortest diameter=117 mm; SD=15; range=86–134) and 47 mm (SD=10; range=30–74) in depth; the water on the bottom was usually about 40 mm deep. The longest diameter of the foam nests ($n=11$) averaged 167 mm (SD=47; range=126–280) (shortest diameter=113 mm; SD=5; range=106–121) and they were 60 mm (SD=20; range=41–105) in height; fresh nests (<5 days) weighed 144 g (SD=49; range=95–240; $n=8$).

We found a couple in axillary amplexus (2:30 hours) within a basin (Figure 1). During egg release/foam-beating (beyond 6:00 hours, already light), the pair turned completely around following the outline of the basin, alternating periods of foam beating and resting. When the female bent her body by raising her cloacae above the foam level, the male beat her cloacal fluids with both legs (shank, feet) moving from side to side, similar to “windscreen wiper actions”. Each complete turn (360°; clockwise or anti-clockwise directions) lasted 5.5 min (SD=2.3; range=4–11; $n=9$ measurements) with 9–11 events of egg release/foam-beating. The foam-beating events averaged 3.7 seconds (SD=0.6; range=2.1–4.6; $n=30$ measurements) and the rests between them 72 s (SD=142; range=1.5–900; $n=30$). This pair left the nest at 14:00 h.

The clutches averaged 513 (SD=134; range=320–732; $n=10$) eggs, which were yellow and had the yolk portion averaging 2.8 mm in diameter (SD=0.3; range=2.3–3.4; $n=20$ eggs/four nests); jelly capsules were not evident. All the eggs were embedded in white foam. Hatching occurred within 3–4 days ($n=6$ nests) and newly-hatched tadpoles were yellow and averaged 10.2 mm in total length (SD=0.44;



Figure 1. An amplexant pair of *Leptodactylus syphax* building a foam nest; male 72.7 mm snout–vent length and female 74.3 mm snout–vent length. Caldas Novas, Goiás.

range=9.5–10.9; stage 19–20; $n=15$). Most of the eggs developed into tadpoles (mean=91%; SD=6.7; range=76–98; $n=13$ nests). While in the nest (10–25 days), tadpoles reached 16.4 mm in maximum total length (SD=1.0; range=14.4–18; stage 25; $n=46$ tadpoles/six nests) when they had completely exhausted their yolk reserves. In both tested groups nestling tadpoles (stage 21) produced their own foam by swimming to the foam surface and releasing bubbles through their mouths.

Drought was a cause of mortality for egg-clutches ($n=5$). Nests were often infested by predatory maggots of *Beckeriella niger* (Williston, 1897) (Diptera, Ephydriidae) (mean=433 maggots/nest; SD=314; range=84–883; $n=5$ nests); adult flies visited nests during daylight. In one site *L. labyrinthicus* was reproducing syntopically with *L. syphax*; their tadpoles (22–43 mm TL; stage 25–29; $n=20$) invaded *L. syphax* nests ($n=3$) and preyed upon eggs (2–18) swallowing each one whole. Snakes (*Liophis poecilogyrus* (Wied, 1825); Serpentes: Colubridae) were found in foam nests ($n=3$) during daytime four times. Two snakes were analysed and had nestling tadpoles ($n=5$ and $n=13$; 12 mm TL) in the gut. After stronger rain showers, some clutches were dislodged downstream and broken up by torrents ($n=6$).

The tadpoles entered the adjacent water bodies when heavy rains flooded the nests (normally up to 12 days after oviposition). Tadpoles settled in both running water and in stagnant shallow pools along stream beds. They were benthic and could cling to rocks in flowing water by using their mouths and by flattening their bodies; often they were also found in very shallow (4–17 mm deep; $n=15$) waters. Tadpoles ($n=6$) could even move to other nearby (30 cm) pools by crossing wet pathways (water-free) using powerful tail movements. They were active during the day and at night and continuously scraped the substrate; when approached by humans (<1 m distance) they became quiet or dived deeper, taking shelter beneath stones/dead leaves. Tadpoles ($n=128$) often died because of droughts. They reached 41 mm in total length before metamorphosis (SD=2.7; range=31.4–44.3; stage 39–40; $n=23$).

In the experiments, individual eggs of *E. nattereri* were ingested whole by tadpoles of both *L. syphax* (76%) and *L. labyrinthicus* (100% eggs). However, only the tadpoles of *L. labyrinthicus* were able to remove eggs embedded in *E. nattereri* foam nests (shallow condition: 4–26 eggs, deep condition: 9–36); these tadpoles penetrated the foam by strongly moving their long muscular tails. Tadpoles of *L. syphax* (18–44 mm TL; stage 25–40; $n=29$) collected in nature in ponds with *E. nattereri* foam nests had no egg in their guts.

Discussion

The body sizes (SVL) of the male and female *L. syphax* studied were similar to those previously reported (Heyer 1979) and, as in other well-known species of the group (e.g. *L. labyrinthicus*; Silva et al. 2005), there was no sexual dimorphism in size. Among frogs, the absence of sexual dimorphism in body size, hypertrophied arms and presence of thumb/chest spines in males are probably related to male × male agonistic interactions (Shine 1979), as demonstrated for other species of the *L. pentadactylus* group (i.e. *L. fallax*, *L. labyrinthicus* and *L. turimiquensis*) (Rivero and Esteves 1969; Gibson and Buley 2004; Silva et al. 2005). Cardoso and Heyer (1995) presented further evidence (i.e. foot-pounding) of territorial behaviours of *L. syphax*.

The monophyletic status and phylogenetic relationship among species of the *L. pentadactylus* group is still poorly resolved (Heyer 1979, 2005), but morphological

synapomorphies supporting this and nested subgroups have been reported (Ponssa 2008). The knowledge of breeding behaviour of most of its members is scanty and fragmentary; nevertheless, considering the available data we believe that it is possible to erect a hypothesis on the evolution of some reproductive traits within the group, mainly based on the current phylogenies, on two key-species (*L. labyrinthicus* and *L. syphax*), and on all pertinent literature.

The foam-making ability of the nestling *L. syphax* tadpoles corroborates the hypothesis (Kokubum and Giaretta 2005) that this behaviour is widespread among the species of the *L. pentadactylus* group and may even represent a derived trait of a more inclusive clade, which would include even species of the *L. fuscus* group (Figure 2; a) (Downie 1984; Caldwell and Lopez 1989; Giaretta and Kokubum 2004), including the former *Adenomera* (Kokubum and Giaretta 2005).

The nests of *L. syphax* are built beside water bodies (not on the top of water as previously reported), usually in basins (probably dug by the adults), as occurs in *L. knudseni*, *L. labyrinthicus*, *L. rhodomystax* Boulenger, 1883, *L. savagei*, *L. turimiquensis* and *L. vastus* (Rivero and Esteves 1969; Muedeking and Heyer 1976; Hero and Galatti 1990; Hödl 1990; Aichinger 1992; Silva et al. 2005; Lima et al. 2006; Vieira et al. 2007). Nests of *L. fallax* and *L. pentadactylus* are also deposited in burrows, but away from water (Lescure and Letellier 1983; Kaiser 1994; Hero and Galatti 1990; Lima et al. 2006). Basins have been also reported for some species of the *L. melanonotus* group [i.e. *L. podicipinus* (Cope, 1862), and *L. petersii* (Steindachner, 1864); Prado et al. 2002; Lima et al. 2006]; however, we suggest that this basin-building behaviour arose independently from that observed in species of the *L. pentadactylus* group because the *L. pentadactylus* group is more closely related to the *L. fuscus* group (Larson and de Sá 1998; Ponssa 2008), whose species lay eggs in underground dug chambers (Giaretta and Kokubum 2004), and it is not a widely spread behaviour among *Leptodactylus* species in which the female parent is the carer (i.e. absent in species of the *L. ocellatus* group). Besides, basin excavation in species of the *L. melanonotus* group is performed by the male (Lima et al. 2006), whereas in the *L. pentadactylus* cluster it is performed by the male and female (Prado et al. 2002; Silva et al. 2005). Consequently, if the *L. pentadactylus* species group is monophyletic, we suggest that excavated basins, as here described, may represent a possible synapomorphy of this group (Figure 2; 1).

Males of *L. syphax* beat the foam with their legs moving from side to side just like “windscreen wiper actions” (see Heyer and Rand 1977 for a scheme to *L. savagei*), as described for *L. fallax*, *L. labyrinthicus*, *L. savagei*, and *L. turimiquensis* (Rivero and Esteves 1969; Heyer and Rand 1977; Gibson and Buley 2004; Silva et al. 2005). This pattern of foam-beating may be another shared derived feature of the whole group (Figure 2; 2), because this behaviour is different in species of the closely related *L. fuscus* group [i.e. *L. fuscus* (Schneider 1799); Oliveira-Filho et al. 2005]. However, it is difficult to ascertain this hypothesis, because the foam nest construction behaviour is unknown for any species of the *L. melanonotus* and *L. ocellatus* groups.

Leptodactylus syphax tadpoles are thought to have a generalized pond/exotrophic–benthic morphology (Eterovick and Sazima 2000), but their proportionally large mouth can be interpreted as evidence of their specialization to running waters (*sensu* Altig and Johnston 1989). Moreover, when settled in flowing water, the

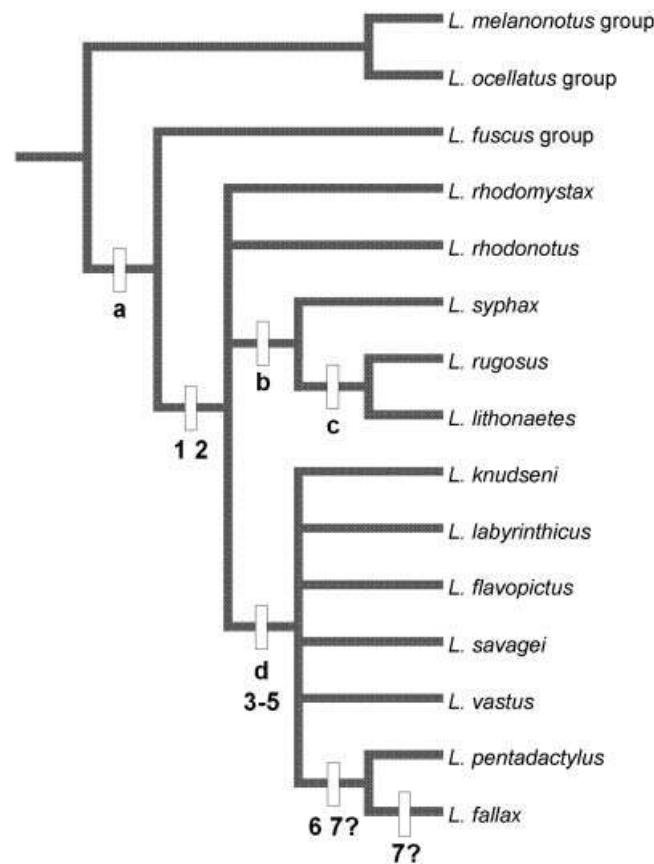


Figure 2. A hypothesis on the distribution of major reproductive features for selected species of the *Leptodactylus pentadactylus* group (*sensu* Heyer 1979, 2005). This composed phylogeny is based on the literature (Heyer 1979, 1995; Maxson and Heyer 1988; Larson and de Sá 1998; Ponssa 2008). Features are represented by letters (literature hypotheses) or numbers (our hypotheses; see Discussion): a, nestling tadpoles can make foam; b, association with rocky/lotic habitats, large mouthed tadpoles; c, semi-terrestrial tadpoles with depressed bodies and shallow tailed fins; d, carnivorous tadpoles (long muscular tail, frontal mouth); 1, excavated basins; 2, male foam-beating like *windscreen wiper actions*; 3, trophic eggs and nest oophagy; 4, post-nestling predatory/oophagous tadpoles (i.e. ability of taking eggs from heterospecific foam nests); 5, large-sized adults; 6, total tadpole development within the nest; 7, maternal care.

tadpoles effectively perform body flattening, cling against the current, and they can even crawl out of water. These behaviours may have represented the initial steps towards the evolution of more evident morphological specializations (i.e. flat body, shallow fins) for lotic habitats as those found in tadpoles of other putatively closely related species of the *L. pentadactylus* group, such as *L. lithonaetes* and *L. rugosus* (Heyer 1995; Heyer and Thompson 2000; Heyer and Heyer 2001). In previous studies, Heyer (1979, 1995) suggested that the species associated with rocky/lotic environments may form a monophyletic subgroup (Figure 2; b, c) (for an alternative evaluation, see Eterovick and Sazima 2000).

Leptodactylus fallax and *L. labyrinthicus* produce trophic eggs (Gibson and Buley 2004; Prado et al. 2005; Shepard and Caldwell 2005; Silva et al. 2005; Zina and Haddad 2005). Tadpoles of *L. knudseni* and *L. savagei* eat eggs in their own nests and those of *L. pentadactylus* complete their development in the nest (Muedeking and Heyer 1976; Hero and Galatti 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Lima et al. 2006). Hence it is expected that clutches of these three species may also contain trophic eggs. In *L. syphax*, eggs normally develop into tadpoles, meaning that this species lacks trophic eggs and that this feature may be a derived condition of a more restrictive subgroup within the *L. pentadactylus* group (Figure 2: 3).

In contrast to the tadpoles of *L. labyrinthicus* (Silva et al. 2005; Giaretta and Facure 2006; present study), *L. syphax* tadpoles cannot remove and prey on eggs embedded in heterospecific foam nests. Tadpoles of *L. syphax* have a relatively generalized morphology (Eterovick and Sazima 2000), but those of *L. labyrinthicus* have a long muscular tail and their oral disk is anteriorly oriented (see a figure in Rossa-Feres and Nomura 2006). Both these features appear to be related to the carnivorous behaviour of tadpoles of some species of the *L. pentadactylus* group (Heyer et al. 1975; Heyer 1979, 2005) and are probably related to the ability of the *L. labyrinthicus* tadpoles to prey on eggs from heterospecific foam nests.

Morphological and behavioural differences between tadpoles of *L. labyrinthicus* and *L. syphax* support the suggestion of Heyer (1979) that the evolutionary changes within the *L. pentadactylus* species group were particularly expressive at the larval phase. In this species group, tadpoles (1) have a generalized exotrophic-benthic morphology (*sensu* Altig and Johnston 1989) [i.e. *L. rhodonotus* (Günther, 1868), *L. rhodomystax* and *L. syphax*], (2) are semi-terrestrial with shallow-finned tails (i.e. *L. lithonaetes* Heyer, 1995, *L. rugosus* (Noble, 1923), and (3) have a carnivorous morphology (long muscular tail, anteriorly directed mouth) (i.e. *L. fallax*, *L. flavopictus* Lutz, 1926, *L. knudseni*, *L. labyrinthicus*, *L. pentadactylus*, *L. savagei* and *L. vastus*) (Bokermann 1957; Heyer 1969b, 1970, 1979, 1995; Hero 1990; Davis et al. 2000; Eterovick and Sazima 2000; Heyer and Thompson 2000; Heyer and Heyer 2001, 2006; Rodrigues et al. 2007; Vieira et al. 2007).

Large adults (>120 mm SVL), tadpoles with long shallow-finned tails (>68 mm TL), frontal mouth, predatory oophagous behaviour, and trophic eggs appear to be derived features that evolved in consonance with one another and that did not arise in the ancestor of the whole group, but at a later cladogenetic event (Figure 2; d, 3–5). A comparison among species with known tadpoles gives support to this hypothesis (Table 1). If this is true, a monophyletic subgroup formed by species sharing these traits is expected to be recognized within the *L. pentadactylus* species cluster (see species in set *A* in Table 1). Indeed, some species of this set *A* (*L. labyrinthicus*, *L. knudseni*, *L. pentadactylus*) group together and apart from *L. rhodomystax* and *L. syphax* (Ponssa 2008). Interestingly, *L. fallax* and *L. labyrinthicus* have trophic eggs, a feature also expected to be shared with *L. knudseni*, *L. savagei* (tadpoles eat eggs in their own nests) and *L. pentadactylus* (tadpoles develop entirely in the nest) (set *A* in Table 1) (Muedeking and Heyer 1976; Hero and Galatti 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Gibson and Buley 2004; Silva et al. 2005).

However, the species in set *B* (Table 1) have mid-sized adults (<85 mm SVL), their tadpoles are smaller (<60 mm TL) and lack a carnivorous morphology. Based on the pattern of *L. syphax* and on our hypothesis of evolutionary association of

Table 1. A hypothesis on the evolutionary association of possible derived features within the *Leptodactylus pentadactylus* species cluster (Heyer 1979, 2005)

Species	SVL male/female	Tadpole size	Carnivorous tadpole	Trophic eggs
SET A				
<i>L. fallax</i>	142/147	81	present	present
<i>L. labyrinthicus</i>	150/142	80	present	present
<i>L. knudseni</i>	132/132	69	present	present*
<i>L. savagei</i>	133/137	83	present	present*
<i>L. pentadactylus</i>	141/154	81	present	present*
<i>L. flavopictus</i>	123/130	69	present	present*
<i>L. vastus</i>	156/151	?	present	present*
SET B				
<i>L. syphax</i>	70/74	44	absent	absent
<i>L. rhodomystax</i>	80/76	49	absent	absent*
<i>L. rhodonotus</i>	68/75	59	absent	absent*
<i>L. rugosus</i>	60/68	41	absent	absent*
<i>L. lithonaetes</i>	70/-?	36	absent	absent*

Adult mean snout-vent length (SVL) and tadpole size (maximum total length) are in millimetres. Carnivorous tadpole refers to morphological traits (long muscular tail and anterior mouth) and states labelled with (*) are predictions (see Discussion). Features of the set A may represent synapomorphies supporting a possible monophyletic subgroup.

derived features, we predict that other species in this set do not produce trophic eggs and that their tadpoles are not specialized for predatory oophagy upon heterospecific foam nests. For example, clutches of *L. rhodomystax* have so few eggs (<300; Rodríguez and Duellman 1994; Rodrigues et al. 2007) that they probably do not produce eggs prone to non-development to be used as food by tadpoles that developed from viable eggs.

The completion by tadpoles of their development in terrestrial nests, as known for *L. fallax* and *L. pentadactylus*, is probably another derived condition (Figure 2; 6). At present, it is unknown whether *L. pentadactylus* females protect the nest and periodically lay unfertilized eggs to feed tadpoles, as do *L. fallax* females (Figure 2; 7) (Hero and Galatti 1990; Rodríguez and Duellman 1994; Davis et al. 2000; Gibson and Buley 2004). Trophic eggs in *L. labyrinthicus* are undeveloped (or unfertilized?) eggs and are deposited in a single event (Silva et al. 2005; Silva and Giaretta 2008), but those of *L. fallax* are deposited several times by the mother during larval development (Gibson and Buley 2004), probably representing the most advanced step in trophic egg (and maternal care) evolution within the *L. pentadactylus* group. To derive the reproductive mode of *L. fallax* from one similar to *L. labyrinthicus* would imply that within a reproductive event the first laid eggs contain both fertilized and unfertilized eggs, and subsequent to this event the female remains with her clutch and periodically adds unfertilized eggs to it.

In summary, if the *L. pentadactylus* species cluster (Heyer 1979, 2005) is monophyletic, excavated basins and foam-beating in lateral motions may be possible derived traits that arose in the common ancestor of the whole group. However, large adults, carnivorous/oophagous tadpoles, and trophic eggs appear to be congruent synapomorphies of a less inclusive group. The rocky habitat species may also form a

monophyletic subgroup, because their tadpoles exhibit morphological and/or behavioural specializations for running and shallow waters. If our evolutionary hypothesis on the association of derived traits (see Table 1) were confirmed, the major reproductive features (i.e. presence/absence of trophic eggs, tadpole morphology and behaviour) of species of the *L. pentadactylus* group could be inferred largely from the body size (SVL) of adults.

Acknowledgements

Financial support was provided by FAPEMIG and CNPq. Fellowships by CAPES (W.R.S.) and CNPq (A.A.G.). The directors of the Parque Nacional da Serra do Cipó and PESCAN allowed access to their facilities. Hugo C.M. Costa, L. Magrini and R.C. Costa helped in the fieldwork. Katia G. Facure helped with the statistical analysis and W.R. Heyer critically read an early version of the draft.

References

- Aichinger M. 1992. Fecundity and breeding sites of an anuran community in a seasonal tropical environment. *Stud Neotrop Fauna E.* 27:9–18.
- Altig R, Johnston GF. 1989. Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. *Herpetol Monogr.* 3:81–109.
- Bokermann WCA. 1957. Notas sobre a biologia de *Leptodactylus flavopictus* Lutz, 1926. *Rev Brasil Biol.* 4:495–500.
- Caldwell JP, Lopez PT. 1989. Foam-generating behavior in tadpoles of *Leptodactylus mystaceus*. *Copeia.* 1989:498–502.
- Cardoso AJ, Heyer WR. 1995. Advertisement, aggressive, and possible seismic signals of the frog *Leptodactylus syphax* (Amphibia, Leptodactylidae). *Alytes.* 13:67–76.
- Davis SL, Davis RB, James A, Tallyn BCP. 2000. Reproductive behavior and larval development of *Leptodactylus fallax* in Dominica, West Indies. *Herpetol Rev.* 31:217–220.
- Downie JR. 1984. How *Leptodactylus fuscus* tadpoles make foam, and why. *Copeia.* 1984:778–780.
- Eterovick PC, Sazima I. 2000. Description of the tadpole of *Leptodactylus syphax*, with a comparison of morphological and ecological characters of tadpoles and adults of the species in the *Leptodactylus pentadactylus* group (Anura, Leptodactylidae). *Amphib-Reptil.* 21:341–350.
- Eterovick PC, Sazima I. 2004. Amphibians from the Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. PUC Minas: Belo Horizonte.
- Frost DR, Amphibian species of the world 5.0, an online reference [Internet]. 2007. New York, United States: The American Museum of Natural History; [cited 2008 March 24]. Available from: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>.
- Gascon C. 1991. Breeding of *Leptodactylus knudseni*: responses to rainfall variation. *Copeia.* 1991:248–252.
- Giaretta AA, Facure KG. 2006. Terrestrial and communal nesting in *Eupemphix nattereri* (Anura, Leiuperidae): interactions with predators and pond structure. *J Nat Hist.* 40:2577–2587.
- Giaretta AA, Kokubum MNdeC. 2004. Reproductive ecology of *Leptodactylus furnarius* Sazima & Bokermann, 1978, a frog that lays eggs in underground chambers (Anura: Leptodactylidae). *Herpetozoa.* 16:115–126.
- Giaretta AA, Menin M, Facure KG, Kokubum MNdeC, Oliveira-Filho JC. 2008. Species richness, relative abundance, and habitat of reproduction of terrestrial frogs in the

- Triângulo Mineiro region, Cerrado biome, southeastern Brazil. *Iheringia, Sér Zool.* 98:181–188.
- Gibson RC, Buley KR. 2004. Maternal care and obligatory oophagy in *Leptodactylus fallax*: a new reproductive mode in frogs. *Copeia*. 2004:128–135.
- Gosner KL. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*. 16:183–190.
- Hero JM. 1990. An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brazil. *Amazoniana*. 11:201–262.
- Hero JM, Galatti U. 1990. Characteristics distinguishing *Leptodactylus pentadactylus* and *L. knudseni* in the Central Amazon rainforest. *J Herpetol.* 24:227–228.
- Heyer WR. 1969a. The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Evolution*. 23:421–428.
- Heyer WR. 1969b. Studies on frogs of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). V: Taxonomic notes on *L. latinasus*, *rhodonotus*, *romani*, and *wuchereri*. *Herpetologica*. 25:1–8.
- Heyer WR. 1970. Studies on frogs of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). II: Diagnosis and distribution of the *Leptodactylus* of Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 16:171–205.
- Heyer WR. 1978. Systematics of the *fuscus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Nat Hist Mus Los Angeles County Sci Bull.* 29:1–85.
- Heyer WR. 1979. Systematics of the *pentadactylus* species group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Smithson Contrib Zool.* 301:1–43.
- Heyer WR. 1995. South American rocky habitat *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) with description of two new species. *P Biol Soc Wash.* 108:695–716.
- Heyer WR. 2005. Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) from Middle America, northern South America, and Amazonia. *Arq Zool.* 37:269–348.
- Heyer WR, Heyer MM. 2001. *Leptodactylus lithonaetes*. *Cat Am Amphib Rep.* 723:1–3.
- Heyer WR, Heyer MM. 2006. *Leptodactylus knudseni*. *Cat Am Amphib Rep.* 807:1–12.
- Heyer WR, McDiarmid RW, Weigmann DL. 1975. Tadpoles, predation and pond habitats in the tropics. *Biotropica*. 7:100–111.
- Heyer WR, Rand AS. 1977. Foam nest construction in the leptodactylid frogs *Leptodactylus pentadactylus* and *Physalaemus pustulosus* (Anura, Leptodactylidae). *J Herpetol.* 11:225–228.
- Heyer WR, Thompson AS. 2000. *Leptodactylus rugosus* Noble. *Cat Am Amphib Rep.* 708:1–5.
- Hödl W. 1990. Biology and physiology of Amphibians. Stuttgart and New York, Fotschritte der Zoologie: W Hanke, Reproductive diversity in Amazonian lowland frogs, p. 41–60.
- Kaiser H. 1994. *Leptodactylus fallax*. *Cat Am Amphib Rep.* 583:1–3.
- Kokubum MNdeC, Giaretta AA. 2005. Reproductive ecology and behaviour of a species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae) with endotrophic tadpoles: systematic implications. *J Nat Hist.* 39:1745–1758.
- Larson PM, de Sá RO. 1998. Chondrocranial morphology of *Leptodactylus* larvae (Leptodactylidae: Leptodactylinae): its utility in phylogenetic reconstruction. *J Morphol.* 238:287–305.
- Lescure J, Letellier F. 1983. Reproduction en captivité de *Leptodactylus fallax* Muller, 1926 (Amphibia, Leptodactylidae). *Rev Fr Aquar.* 2:61–64.
- Lima AP, Magnusson WE, Menin M, Erdtmann LK, Rodrigues DJ, Keller C, Hödl W. 2006. Guide to the frogs of Reserva Adolpho Ducke, Central Amazonia. Manaus, Brazil: Áttema Design Editorial.
- Maxson LR, Heyer WR. 1988. Molecular systematics of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). *Fieldiana Zool.* 41:1–13.

- Menin M, Giaretta AA. 2003. Predation on foam nests of leptodactyline frogs (Anura, Leptodactylidae) by larvae of *Beckeriella niger* (Diptera, Ephydriidae). J Zool. 261:239–243.
- Muedeking MH, Heyer WR. 1976. Description of eggs and reproductive patterns of *Leptodactylus pentadactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Herpetologica 32:137–139.
- Oliveira-Filho JC, Costa HCM, Braga UML. 2005. Egg-laying and foam-beating in *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae). Biota Neotrop. 5. Available from: <http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/pt/abstract?short-communication+bn01305022005>.
- Oliveira PS, Marquis RJ. 2002. The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna. Columbia, NY: Columbia University Press.
- Ponssa ML. 2008. Cladistic analysis and osteological descriptions of the frog species in the *Leptodactylus fuscus* species group (Anura, Leptodactylidae). J Zool Syst Evol Res. 46:249–266.
- Prado CPA, Toledo LF, Zina J, Haddad CFB. 2005. Trophic eggs in the foam nests of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae): an experimental approach. Herpetol J. 15:279–284.
- Prado CPA, Uetanabaro M, Haddad CFB. 2002. Description of a new reproductive mode in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with a review of the reproductive specialization toward terrestriality in the genus. Copeia 2002:1128–1133.
- Rivero JA, Esteves AE. 1969. Observations on the agonistic and breeding behaviour of *Leptodactylus pentadactylus* and other amphibian species in Venezuela. Breviora Mus Comp Zool. 321:1–14.
- Rodrigues DJ, Menin M, Lima AP. 2007. Redescription of the tadpole of *Leptodactylus rhodomystax* (Anura: Leptodactylidae) with natural history notes. Zootaxa. 1509:61–67.
- Rodríguez LO, Duellman WE. 1994. Guide to the frogs of the Iquitos region, Amazonian Peru. Nat Hist Mus. 22:1–80.
- Rossa-Feres DC, Nomura F. 2006. Characterization and taxonomic key for tadpoles (Amphibia: Anura) from northwestern region of São Paulo State, Brazil. Biota Neotrop. 6(1). Available from: <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?identification-key+bn00706012006>.
- Shepard DB, Caldwell JP. 2005. From foam to free-living: ecology of larval *Leptodactylus labyrinthicus*. Copeia. 2005:803–811.
- Shine R. 1979. Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. Copeia. 1979:297–306.
- Silva WR, Giaretta AA, Facure KG. 2005. On the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Anura, Leptodactylidae). J Nat Hist. 39:555–566.
- Silva WR, Giaretta AA, Facure KG. 2008. Vocal repertory of two species of the *Leptodactylus pentadactylus* group (Anura, Leptodactylidae). Contemp Herpetol. 2008:1–6.
- Silva WR, Giaretta AA. 2008. Further notes on the natural history of the South American pepper frog, *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae). Braz J Biol. 68:403–407.
- Vieira WLS, Santana GG, Vieira KS. 2007. Description of the tadpole of *Leptodactylus vastus* (Anura, Leptodactylidae). Zootaxa. 1529:61–68.
- Zar JH. 1999. Biostatistical analysis. 4th edn. New Jersey: Prentice- Hall.
- Zina J, Haddad CFB. 2005. Reproductive activity and vocalizations of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) in Southeastern Brazil. Biota Neotrop. 5(2). Available from: <http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/en/abstract?article+bn00605022005>.