

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**Campus de Botucatu – Instituto de Biociências**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia)**

**Mestrado**

**Ecologia de *Phyllomedusa tetraploidea* Pombal & Haddad, 1992 e individualização  
por marcas naturais**

**Botucatu**

**2019**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**Campus de Botucatu – Instituto de Biociências**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia)**

**Mestrado**

**Ecologia de *Phyllomedusa tetraploidea* Pombal & Haddad, 1992 e individualização  
por marcas naturais**

**Orientador: Prof. Dr. Reginaldo J. Donatelli**

**Co-orientador: Prof. Dr. Fábio Maffei**

**Aluno: Bruno Tayar Marinho do Nascimento**

**Botucatu**

**2019**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Nascimento, Bruno Tayar Marinho do.

Ecologia de *Phyllomedusa tetraploidea* Pombal & Haddad, 1992 e individualização por marcas naturais / Bruno Tayar Marinho do Nascimento. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Reginaldo J. Donatelli  
Coorientador: Fábio Maffei

Capes: 20406010

## Sumário

<b>Agradecimentos .....</b>	<b>5</b>
<b>Capítulo 1 .....</b>	<b>7</b>
<b>ECOLOGIA E HISTÓRIA NATURAL DE <i>PHYLLOMEDUSA TETRAPLOIDEA</i> (ANURA: PHYLLOMEDUSIDAE), NO INTERIOR DO ESTADO DE SÃO PAULO, SUDESTE DO BRASIL .....</b>	<b>8</b>
Abstract .....	8
Resumo.....	9
Introdução.....	10
Materiais e métodos .....	11
Resultados .....	14
Discussão.....	18
Referências .....	23
<b>Capítulo 2 .....</b>	<b>30</b>
<b>USO DE FOTOGRAFIAS PARA INDIVIDUALIZAR PERERECAS-MACACO (<i>PHYLLOMEDUSA TETRAPLOIDEA</i>) NO SUDESTE DO BRASIL.....</b>	<b>30</b>
Abstract .....	30
Resumo.....	31
Introdução.....	33
Material e métodos .....	34
Resultados .....	36
Discussão.....	38
Referências .....	45

## Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Reginaldo J. Donatelli pela ajuda, revisão do manuscrito e principalmente ter me aceitado como orientado em seu laboratório de “passarinheiros” provando que ciência se faz da união de pessoas e conhecimentos de áreas tão diversas como nossa fauna.

A Dr<sup>a</sup> Cinthia Aguirre Brasileiro e Dr. Iberê Farina Machado pela atenção ao aceitarem o convite em participar da banca e pelas contribuições e melhorias do trabalho realizado.

Ao meu grande amigo e co-orientador Fábio Maffei pela paciência, confiança, dividir o veneno das *Phyllomedusas* comigo e a oportunidade dada em poder trabalhar com o grande motivo de eu me tornar “sapólogo”: as “Phyllos”. Sem suas ideias e conhecimento este trabalho não seria possível.

Ao meu pai e meu irmão pela paciência ao eu ter “sumido” dentro de casa durante o período em que redigia este trabalho. A credibilidade e confiança depositados por vocês em mim possibilitaram isso.

A minha amada mãe, que sempre acreditou em mim como biólogo e sempre vibrou junto com meu pai e meu irmão cada passo dado em minha carreira. Tenho certeza que onde estiver, está vendo os resultados daquelas noites em que eu chegava tarde em casa depois das idas a campo. Saiba que este trabalho é inteiramente dedicado a você!

Aos amigos Guilherme Sementilli Cardoso e Alexandre Ribeiro (Dino) pela grande ajuda e paciência com as análises estatísticas. A todos também queridos amigos que a pós-graduação me trouxe: Alexandre Arvigo (Seu Jorge), Eduardo Dal Farra (Xuxa), Isabela Moraes (Isa), Nadayca Mateussi (Naná), Mariana Antunes (Magrela) e Ana Maria Ruocco (Matinho). Sem a hospitalidade e as risadas de vocês tudo teria sido bem mais difícil.

Aos amigos Hudson Munhoz, João Zago e Ananda de Barros Barban pelas ideias e dicas trocadas ao longo do tempo.

Ao João Bispo que sempre auxiliou no agendamento das campanhas e por fazer parte de várias noites de coleta. Espero que a bicharada sempre lhe renda boas fotos!

A Duratex pelo apoio financeiro e logístico para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

# Capítulo 1

Phyllomedusa – Journal of Herpetology

# **Ecologia e história natural de *Phyllomedusa tetraploidea* (Anura: Phyllomedusidae), no interior do Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil**

Bruno Tayar Marinho do Nascimento<sup>1,2</sup>, Fábio Maffei<sup>2</sup> e Reginaldo José Donatelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil. e-mail: [tayarbio@gmail.com](mailto:tayarbio@gmail.com)

<sup>2</sup>Laboratório de Ornitologia, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Bauru, SP, Brazil.

## **Abstract**

### **Ecology and natural history of *Phyllomedusa tetraploidea* (Anura: Phyllomedusidae), in the interior of the State of São Paulo, Southeastern Brazil.**

*Phyllomedusa tetraploidea* is a typical arboreal species of forest. It was studied during four breeding seasons in a temporary pond in the interior of the state of São Paulo. Data on horizontal distribution, vertical distribution, substrate, water body distance, morphometry, and spawning were taken. The reproductive pattern in time scale is prolonged being associated to the increase of temperature during the rainy season. There was sexual dimorphism with females being larger and heavier. In the habitat use the species had a preference for tree vegetation, at an average height of 2.26 m that ranged from 0 to more than 5 meters, with 45.9% of the logs being 1.1 to 2 meters. Of the individuals were recorded perched 36.6% (n = 95) were on the inside of the pond. Six types of perches were used, being 57.2% of records made on tree substrate. There was a preference for dense plant cover. Eight nests were recorded being arranged at an average height of 2.6 meters and the majority were made from leaves of trees. Territorial behavior among males and events of adult predation were observed.

**Keywords:** Autoecology, treefrog, Atlantic Forest, Cerrado

## **Resumo**

### **Ecologia e história natural de *Phyllomedusa tetraploidea* (Anura: Phyllomedusidae), no interior do Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil.**

*Phyllomedusa tetraploidea* é uma espécie arborícola típica de mata. Foi estudada durante quatro estações reprodutivas em poça temporária no interior do estado de São Paulo. Dados sobre distribuição horizontal, vertical, substrato, distância do corpo d'água, morfometria, e desovas foram tomados. O padrão reprodutivo em escala temporal é prolongado estando associado ao aumento de temperatura durante a estação chuvosa. Houve dimorfismo sexual sendo as fêmeas maiores e mais pesadas. No uso do habitat a espécie teve preferência por vegetação arbórea, a uma altura média de 2,26 que variou de 0 a mais de 5 metros sendo 45,9% dos registros a 1,1 a 2 metros. Dos indivíduos foram registrados empoleirados 36,6% (n = 95) estavam sobre o interior da poça. Seis tipos de poleiros foram utilizados sendo que 57,2% dos registros feitos em substrato arbóreo. Houve preferência por cobertura vegetal densa. Oito ninhos foram registrados estando dispostos a uma altura média de 2,6 metros sendo a maioria confeccionado em folhas de árvores. Comportamento territorialista entre machos e eventos de predação de adultos foram observados.

**Palavras-chave:** Autoecologia, perereca, Mata Atlântica, Cerrado

## Introdução

O Brasil possui a herpetofauna mais rica do mundo com cerca de 1.870 espécies, sendo que 1.039 (aproximadamente 55%) são anfíbios pertencentes à Ordem Anura (Segalla *et al.* 2016). A família Phyllomedusidae conta atualmente no país com 37 espécies distribuídas em seis gêneros: *Agalychnis*, *Cruziohyla*, *Phasmahyla*, *Phrynomedusa*, *Pithecopus* e *Phyllomedusa*, sendo que este último é o mais diverso onde são conhecidas 14 espécies no Brasil (Segalla *et al.* 2016).

O gênero *Phyllomedusa* Wagler, 1830 está distribuído desde o Panamá até o norte da Argentina e Uruguai (Frost 2019) e conta com 15 espécies caracterizadas por possuírem porte avantajado (Comprimento rostro-cloacal [CRC] = 130 mm em *Phyllomedusa bicolor*), coloração verde em vida, além de membrana interdigital diminuta ou inexistente, dente vomeriano presente, membrana palpebral sem padrão reticulado e girinos com disco anteroventral (Duellman *et al.* 2016).

Atualmente as espécies do gênero estão alocadas em quatro grupos (*Phyllomedusa burmeisteri*, *P. hypochondrialis*, *P. perinesos* e *P. tarsi*). O grupo *Phyllomedusa burmeisteri* compreende cinco espécies: *P. burmeisteri*, *P. distincta*, *P. iheringii*, *P. tetraploidea* e *P. bahiana* (Faivovich *et al.* 2010). É o único grupo em que há registro de hibridização entre duas espécies através da sobreposição da área de distribuição da diploide *Phyllomedusa distincta* e a tetraploide *P. tetraploidea*, que produzem indivíduos triploides com baixa fertilidade ou estéreis (Haddad *et al.* 1994).

A perereca-macaco *Phyllomedusa tetraploidea* foi descrita por Pombal & Haddad em 1992 e sua distribuição se dá pela Mata Atlântica da Argentina, Paraguai e Brasil, ocorrendo nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Dias *et al.* 2013, Frost 2019). É uma espécie associada a áreas florestadas, podendo ser encontrada também em florestas secundárias e pastagens (Dias *et al.* 2013.). É classificada pela IUCN como “Pouco preocupante”, mas na Argentina e Paraguai a espécie encontra-se listada como Vulnerável (Lavilla, 2008, Motte *et al.* 2009).

A desova é arborícola na qual é feito um ninho de folhas em forma de bolsa (charuto) sobre a água, dobrando uma folha em torno da massa de cápsulas cheias de líquido e ovos-embriões que após a eclosão dos girinos, caem na água parada abaixo do ninho (modo reprodutivo 24, *sensu* Haddad e Prado 2005).

Aspectos ecológicos de diversas espécies do gênero *Phyllomedusa* são relatados na literatura, porém, são escassos os trabalhos que tragam informações sobre a ecologia, história natural, distribuição espacial e comportamental em grandes populações com estudos de longo prazo. Sendo assim, este estudo tem como objetivo principal reportar dados sobre abundância e relações entre fatores bióticos e abióticos como distribuição vertical, horizontal, uso do habitat, locais de construção de ninhos, influência de cobertura vegetal, bem como dados sobre comportamentais de defesa de território e eventos de predação de *P. tetraploidea*.

## **Materiais e métodos**

### *Área de estudo*

O estudo foi realizado na Fazenda Rio Claro, município de Lençóis Paulista, estado de São Paulo (Figura 1) (22°46'36.14"S 48°53'53.22"O, altitude 650 m) localizada no planalto ocidental e possui vegetação remanescente de Cerrado com faixas de formações de Mata Atlântica. O clima da região segundo classificação de Koppen é *Cwa*, caracterizado por clima tropical de altitude com verão chuvoso e inverno seco (Alvarez *et al.* 2014).

A poça temporária estudada possui aproximadamente 6 x 12 m de lâmina d'água com uma profundidade máxima de 0,80 m que varia ao longo do ano, permanecendo seca durante outono e inverno. Está inserida em uma área de preservação permanente (APP) de Mata Atlântica (Floresta Estacional Semidecídua) com dossel de até 15 metros em meio a matriz de eucalipto. A vegetação marginal é constituída por indivíduos arbóreos, arbustivos, herbáceos com grande quantidade de lianas e gramíneas altas (*Panicum* sp.). Na área interior da poça durante a estação chuvosa ocorre o rebroto de taboa (*Typha* sp.) em grande quantidade.



**Figura 1.** Localização da área de estudo de *Phyllomedusa tetraploidea* com destaque do local dentro do estado de São Paulo, perímetro do município de Lençóis Paulista com localização da Fazenda Rio Claro (círculo preto) e detalhe (círculo vermelho) da poça no interior da propriedade em imagem de satélite (Google Earth).

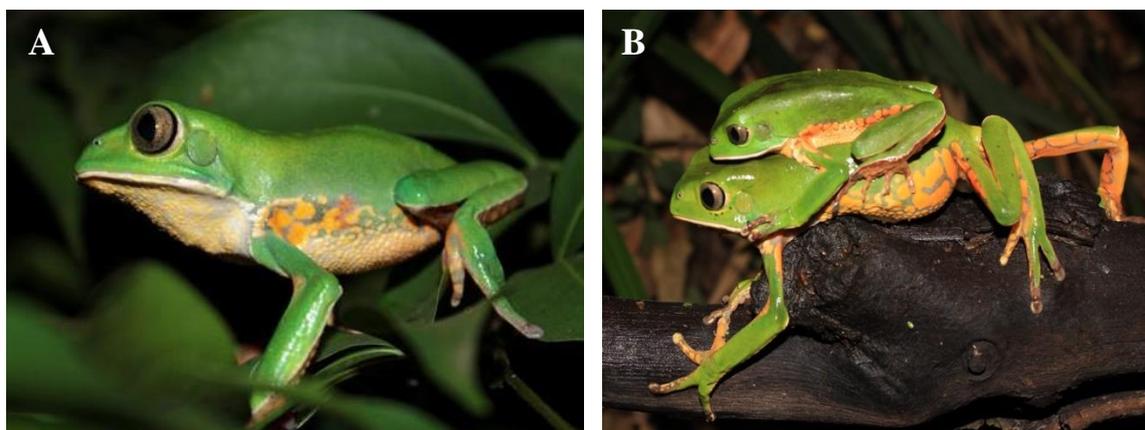
### *Coleta de dados*

As visitas foram concentradas entre setembro a fevereiro de 2011 a 2015 totalizando 21 visitas: 2011 (duas visitas), 2012 (seis visitas), 2013 (quatro visitas), 2014 (cinco visitas), 2015 (duas visitas). Para a coleta de dados foram anotadas variáveis como altura do poleiro, distância da margem (D.M.), tipo de substrato (poleiro), tipo de solo, cobertura vegetal (C.V.), bem como dados morfométricos de comprimento rostro-cloacal, peso, sexo e atividade de vocalização dos indivíduos. As desovas encontradas tiveram dados tomados quanto a sua altura e tipo de vegetação em que foram confeccionados.

A busca noturna no sítio reprodutivo teve início por volta das 18:00h e finalizada por volta das 01:30h (desconsiderando horário de verão) utilizando-se dois métodos simultâneos: a procura visual (Crump e Scott Jr. 1994) que consiste em andar lentamente procurando indivíduos empoleirados nos galhos e sobre a vegetação com auxílio de uma lanterna, bem como a busca auditiva (Zimmerman 1994) que busca registrar os machos em atividade de vocalização.

Para coleta de dados morfométricos foi utilizado um paquímetro com precisão de 0,1 mm e para obtenção da massa corpórea de cada indivíduo uma balança de molas Pesola ® de 50 gramas. A porcentagem de cobertura vegetal foi estipulada tendo-se como base um quadrante de 1 m<sup>2</sup>, sendo estimada visualmente o preenchimento da vegetação em porcentagem sobre cada indivíduo visualizado.

Para captura dos indivíduos de *Phyllomedusa tetraploidea* (Figura 2) que se encontravam a mais de 2,5 metros foi utilizada uma vara telescópica de 3,60 metros. Após a coleta de dados morfométricos e massa os animais foram soltos o mais próximo possível de onde foram capturados. A coleta de dados foi realizada mediante autorização do SISBIO N° 40639-1.



**Figura 2.** Indivíduo de *Phyllomedusa tetraploidea* sobre folhas (A) e amplexo (B).

Os dados climáticos (pluviosidade, temperatura máxima, temperatura média e temperatura mínima) foram obtidos a partir de uma estação meteorológica na própria fazenda localizada a aproximadamente de dois quilômetros do local de estudo.

#### *Análise de dados*

A relação entre as variáveis climáticas (precipitação total mensal, temperaturas médias máximas e mínimas mensais) foi testada com base no coeficiente de correlação de Spearman ( $R_s$ ). As correlações foram realizadas independentemente considerando cada variável climática com a abundância mensal de machos vocalizando de 2011 a 2013. Foi utilizado o programa BioEstat 5.0 (Ayres *et al.* 2007).

Foi realizada uma regressão linear entre CRC e o peso dos machos para verificar a relação entre estas duas medidas biométricas do animal. Não foi possível realizar análise entre sexos diferentes devido ao baixo número de fêmeas registradas no presente estudo quando comparado ao de machos.

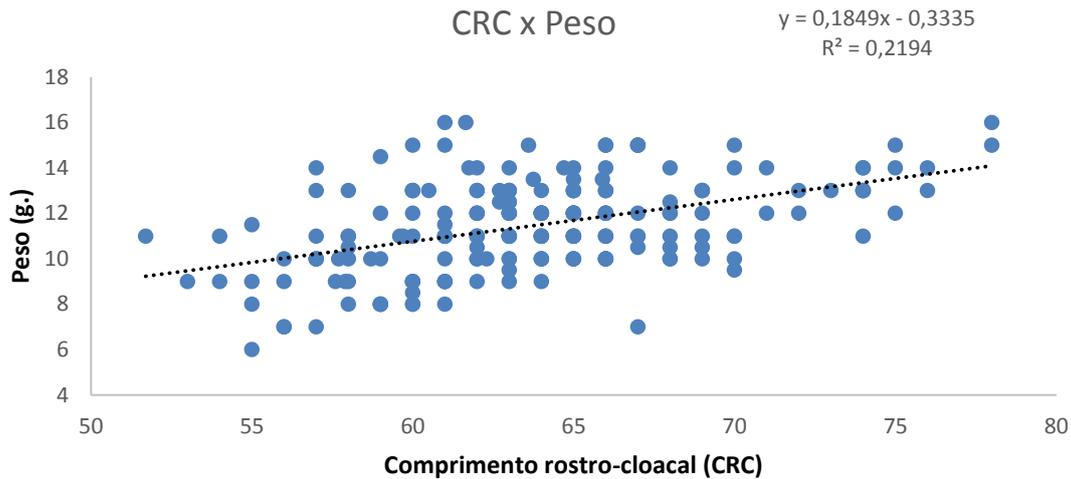
As variáveis de nicho espacial dos machos de *P. tetraploidea* foram testadas a fim de analisar os dados morfométricos com os dados ambientais. Foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) entre o CRC e o tipo de solo bem como o tipo de poleiro aferindo se há preferência de grupos demográficos (animais grandes ou pequenos) por cada variável. A mesma análise foi utilizada para correlacionar a abundância de machos com a cobertura vegetal e a distância da margem (considerando-se a delimitação da região litorânea da poça) (Freitas *et al.* 2008).

Para verificar a relação entre o CRC e dados não categóricos tomados em campo (medidas de altura do poleiro e distância da margem) foi feita uma regressão múltipla (Zar 1999, Dias *et al.* 2013). Todas as análises foram realizadas no software R-cran (R Core Team, 2014).

## **Resultados**

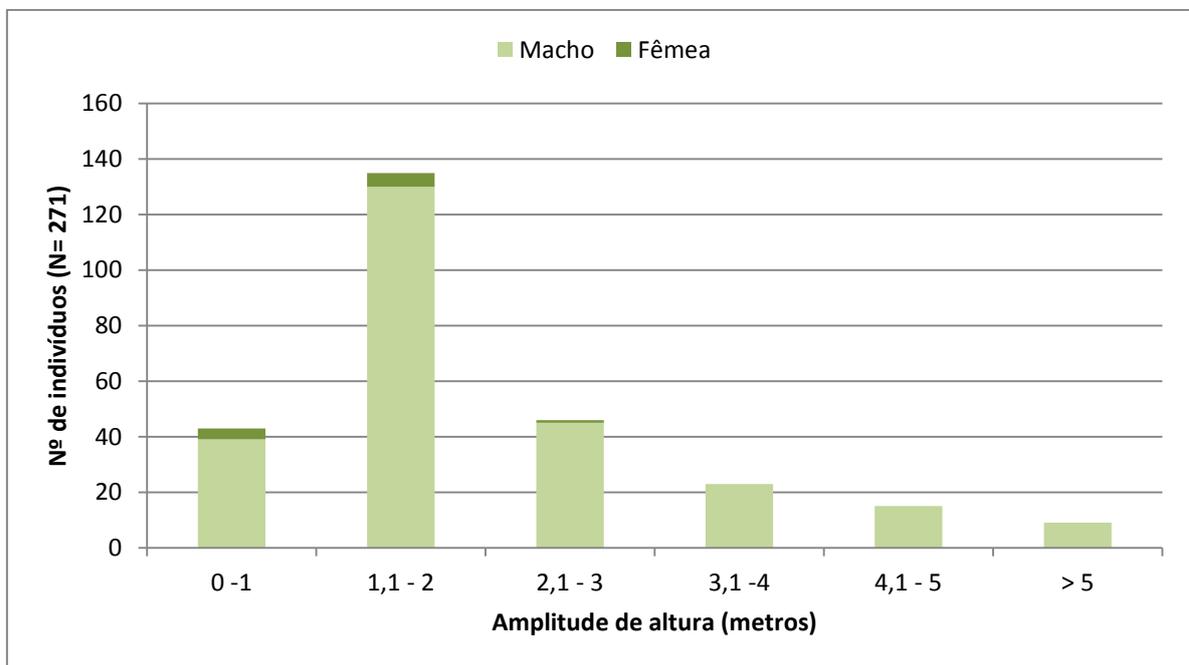
O período reprodutivo de *Phyllomedusa tetraploidea* no local de estudo teve início em Agosto se estendendo até Fevereiro com machos em atividade de vocalização durante todo período chuvoso. A abundância da espécie variou de 5 até 40 indivíduos vocalizando em uma noite. O aumento da abundância esteve diretamente correlacionado ao aumento da temperatura média ( $R_s = 0,59$ ,  $P = 0,002$ ), temperatura máxima ( $R_s = 0,71$ ;  $P < 0,0001$ ) e temperatura mínima ( $R_s = 0,51$ ,  $P = 0,0105$ ).

Foi registrado um total de 272 indivíduos de *Phyllomedusa tetraploidea* sendo 11 fêmeas (4%), 261 machos (96%). Dentre os animais em que dados morfométricos foram obtidos, as fêmeas ( $n = 7$ ) foram maiores ( $77.9 \text{ mm} \pm 5.7$ ) e mais pesadas ( $25.7 \text{ g} \pm 4.7$ ) que os machos ( $n = 203$ ) (CRC =  $63.9 \text{ mm} \pm 4.9$ , Massa =  $11.4 \text{ g} \pm 1.9$ ). Entre os machos a correlação entre CRC e peso foi positiva indicando que indivíduos maiores tendem a ter maior massa (Gráfico 1). Não foi possível correlacionar o CRC e peso entre sexos devido ao baixo número de fêmeas registradas.



**Gráfico 1.** Correlação entre CRC e Peso dos machos de *P. tetraploidea* registrados na Fazenda Rio Claro, Lençóis Paulista/ SP.

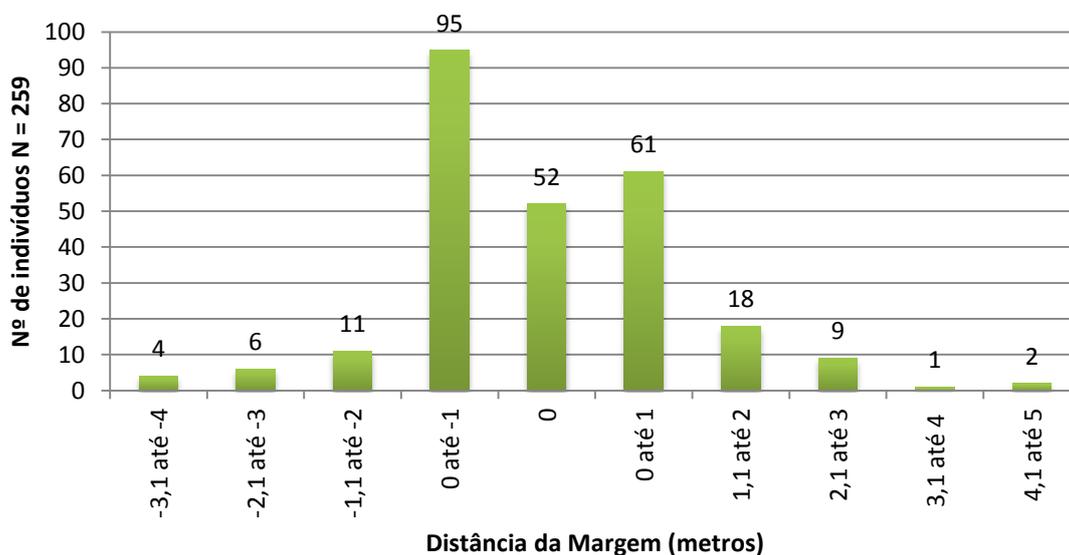
A amplitude de altura variou desde o nível do solo a mais de cinco metros com 49,8% (n = 135) dos indivíduos de 1,1 a 2 m de altura, 16,9% (n = 46) de 2 a 3 m e 15,8% (n = 43) de 0 a 1 m de altura (Gráfico 2). Não houve correlação entre o CRC e distribuição vertical da espécie.



**Gráfico 2.** Amplitude da altura dos indivíduos de *P. tetraploidea* (Machos = cinza claro; Fêmeas = preto;) registrados na Fazenda Rio Claro, Lençóis Paulista/ SP.

A distribuição horizontal dos machos de *P. tetraploidea* na vegetação variou de 1 a 5 metros de distância partindo-se da linha da margem para fora do corpo d'água

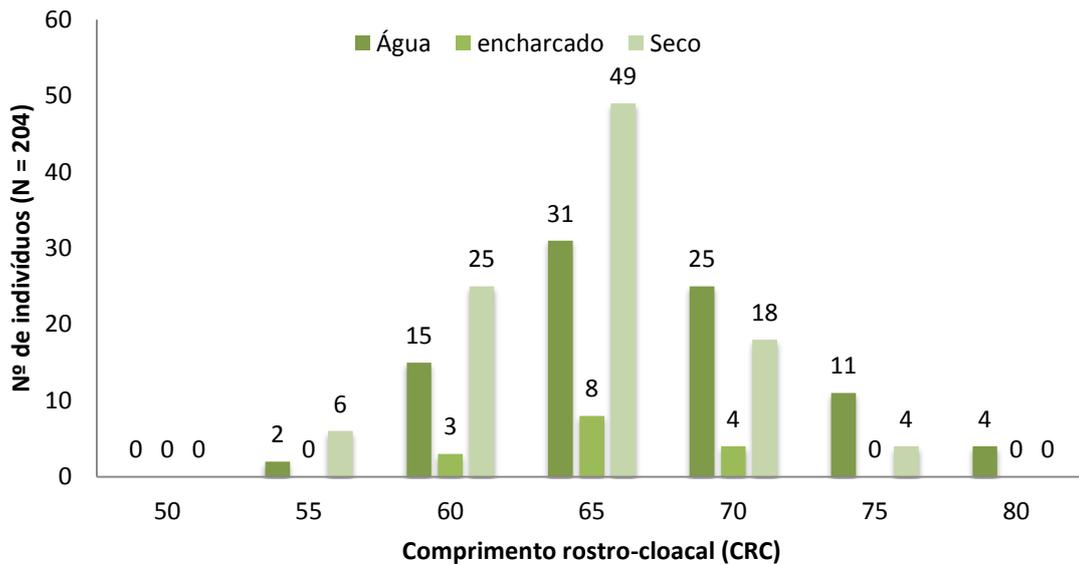
(distância positiva) e de 1 a 4 metros a partir da linha da margem ao seu interior (distância negativa). Houve correlação entre a abundância e a amplitude de distância da margem ( $F = 0,54$ ,  $P = 0,58$ ) tendo predominância de animais empoleirados no interior da poça (36,6%,  $n = 95$ ), seguido de animais até 1 metro para fora da poça (23,5%,  $n = 61$ ) e por fim indivíduos registrados sobre a margem (20%,  $n = 52$ ).



**Gráfico 3.** Amplitude negativa e positiva da distância da margem do corpo d'água observado nos indivíduos de *P. tetraploidea* na Fazenda Rio Claro, Lençóis Paulista/SP.

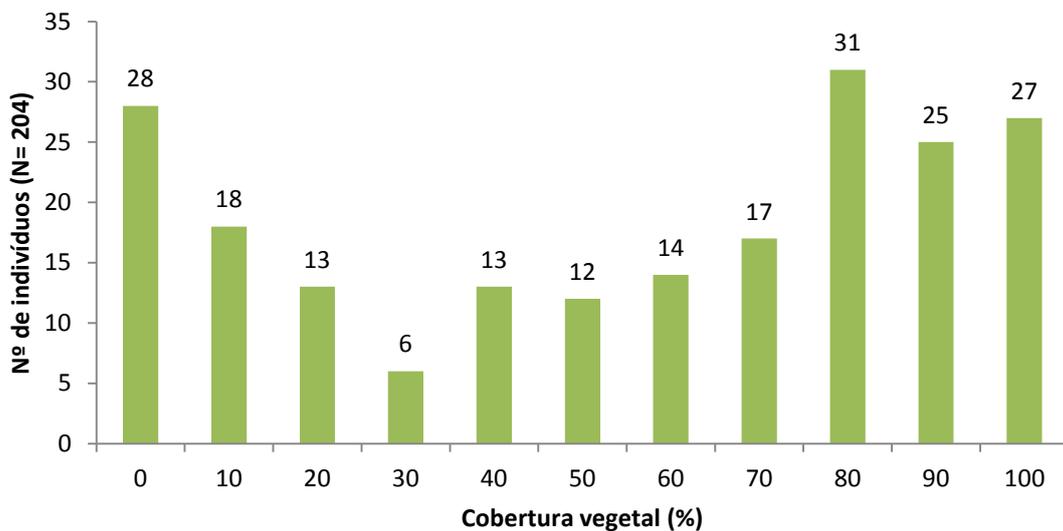
Das categorias de solo abaixo do poleiro (solo seco, solo encharcado e água), 49,5% dos machos foram registrados sobre solo seco ( $n = 101$ ), 43,1% ( $n = 88$ ) sobre a água e 7,3% ( $n = 15$ ) sobre solo encharcado.

Houve correlação entre o CRC dos machos encontrados empoleirados sobre solo encharcado/água ( $P = 0,46$ ) solo seco/encharcado ( $P = 0,68$ ) onde foi notada a presença de machos maiores (na média e acima da média) sobre a água, enquanto indivíduos menores são encontrados da margem para fora do corpo d'água havendo certa segregação na distribuição horizontal em relação às classes de tamanho (Gráfico 4).



**Gráfico 4.** Abundância, tipo de solo e comprimento rostro-cloacal (CRC) dos machos de *P. tetraploidea* na Fazenda Rio Claro, Lençóis Paulista/ SP.

A espécie apresentou preferência por ambientes com cobertura vegetal densa e total com 49% (n = 100) dos machos encontrados sob densidades de 70% a 100% de cobertura acima dos mesmos, enquanto que indivíduos totalmente expostos (0%) ou sob vegetação esparsa (10% a 30%) representaram 31,8% (n = 65). Não foi encontrada nenhuma correlação entre o tamanho dos indivíduos registrados com a densidade do dossel acima deles.



**Gráfico 5.** Influência da cobertura vegetal observado nos indivíduos machos de *P. tetraploidea* na Fazenda Rio Claro, Lençóis Paulista/ SP.

Dentre os seis tipos de poleiros utilizados pelos machos, houve predominância do substrato arbóreo com 57,2% (n = 118), seguido de plantas herbáceas com 38,3% (n = 79), cipós (lianas) com 31% (n = 64), arbustos (7,7%, n = 16) e apenas 1,4% (n = 3) em bambus. Apenas um indivíduo (fêmea) foi registrado se deslocando em solo úmido. Não houve correlação entre o CRC e tipo de poleiro utilizado ( $F = 1.68$ ,  $P = 0.15$ ) sugerindo que não há preferência do uso de substrato por classe de tamanho entre os machos.

Um total de oito ninhos (Figura 3) foram registrados dispostos a uma altura média de 2,6 m com amplitude variando de 1,2 a 4 metros. Destes, 75% (n = 6) foram confeccionados em folhas de árvores, sendo o restante confeccionado em herbáceas (n = 1) e bambu (n = 1) onde foi observada a junção de mais de uma folha na confecção do ninho.



**Figura 3.** Casal de *Phyllomedusa tetraploidea* durante processo de desova em ninho de folhas de árvore (A) e detalhe dos ovos no ninho (B).

### Discussão

A distribuição temporal de *Phyllomedusa tetraploidea* está intimamente ligada com seu modo reprodutivo que sofre influência da sazonalidade sobrepondo com grande parte das 43 espécies de anuros que ocorrem na área (Maffei e Ubaid 2014). Fatores ambientais como temperatura e pluviosidade são considerados os mais importantes para

a duração do período reprodutivo de anuros (Duellman e Trueb 1994; Wogel *et al.* 2006).

No caso de *P. tetraploidea*, a espécie sofre influência principalmente do aumento da temperatura que aparentemente age como um “*start*” no aumento da abundância e atividade de vocalização dos machos como constatado também em *Phyllomedusa burmeisteri* (Wogel *et al.* 2004), espécie típica de Mata Atlântica onde a abundância e a atividade de vocalização também estão relacionadas a temperaturas mais quentes durante a estação chuvosa.

Em algumas espécies de anuros o aumento na abundância é influenciado pelos altos índices pluviométricos, característica comum em espécies que ocorrem em áreas abertas de cerrado (Rodrigues *et al.* 2007, Brites *et al.* 2008) e estão sujeitas a maior irradiação solar e ação dos ventos, tornando-as dependentes da umidade do ar proveniente de chuvas intensas que evitam a dessecação de ovos e embriões envoltos em folhas (no caso de Phyllomedusidae) bem como a manutenção volumétrica dos corpos d'água, formando assim um ambiente adequado para o desenvolvimento de girinos destas espécies (Oliveira *et al.* 2012).

A espécie estudada apresentou padrão reprodutivo prolongado com os machos vocalizando durante toda a estação reprodutiva com a chegada assincrônica de ambos os sexos no local. Esse mesmo padrão foi verificado por Fisch e Port (2013) no município de Xaxim, estado de Santa Catarina entre outubro de 2009 a setembro de 2010, sendo que durante a estação seca (abril a julho de 2010) não houve registros de *P. tetraploidea*. O mesmo padrão foi encontrado em outras espécies da família Phyllomedusidae como *Pithecopus azureus* (Freitas *et al.* 2008), *Phyllomedusa boliviana* (Vaira 2001) *P. distincta* (Castanho 1994) e *P. rhodei* (Wogel *et al.* 2006).

Dimorfismo entre os sexos em *P. tetraploidea* também foi descrita por Dias *et al.* (2013) no estado do Rio Grande do Sul. A variação de tamanho entre machos e fêmeas é comum em anuros e ocorre com até 90% das espécies (Shine 1979) com fêmeas maiores, sendo este fato relacionado à capacidade de fêmeas maiores produzirem maior quantidade de ovos por desova (Crump e Kaplan 1979, Prado *et al.* 2000) ou a uma provável restrição de crescimento devido a demanda energética dos machos em espécies com padrão reprodutivo prolongado que durante este período

mantém atividades como vocalização e defesa do território constantes (Woolbright 1989).

Animais menores e maiores que a média de CRC estão distribuídos igualmente no extrato vertical a uma média de altura de 1,91 metros, pouco maior que a observada por Dias *et al.* (2013) que registrou uma altura média de 1,65 metros variando de 55 cm a 6 metros semelhante a observada no presente estudo. Assim como a distância do corpo d'água com uma média de 1,63, três centímetros a menos que a média encontrada pelo referido autor.

A distribuição espacial aparentemente varia de acordo com a formação vegetal sendo que nas espécies que ocorrem em áreas abertas os indivíduos tendem a vocalizar mais próximos do nível do solo como, por exemplo, *P. ayeaye* a uma altura máxima de 2 metros (Nali *et al.* 2015), *P. megacephala* a 2,1 metros (Oliveira *et al.* 2012) e *P. hypocondrialis* a 1,5 metros (Pyburn e Glidewell 1971).

Apesar de haver maior concentração de machos sobre solo seco, existe uma tendência de indivíduos maiores vocalizarem sobre a água podendo esse fato estar associado a disputas físicas em que machos maiores tenham vantagens competitivas sobre os menores. Isso foi relatado por Abrunhosa e Wogel (2004) em *P. burmeisteri* que de quatro disputas apenas uma foi vencida por um macho menor. Oliveira *et al.* (2012) observou em *P. megacephala* que indivíduos maiores (mais velhos) tendem a ser mais experientes após sobreviverem a sucessivas estações e se tornam melhores competidores aumentando sua taxa de sucesso com as fêmeas quando comparada a indivíduos jovens (menores).

O comportamento territorialista foi descrito para diversas espécies de Phyllomedusidae como *Phyllomedusa boliviana* (Vaira 2001), *P. distincta* (Castanho 1994), *P. sauvagii* (Halloy e Espinoza 2000), *Pithecopus hypocondrialis* (Matos *et al.* 2000), *P. rohdei* (Abrunhosa e Wogel 2004) e *P. azurea* (Costa *et al.* 2010) tendo sido também registrado no presente estudo. Esse comportamento pode lhes garantir folhas bem posicionadas para desova, melhores locais de vocalização e facilitar a sua localização pelas fêmeas (Martins *et al.* 1998, Jansen e Kohler 2008).

Dentre a variedade de substratos utilizados como poleiro por *P. tetraploidea*, a maioria dos indivíduos foi encontrada em substrato arbóreo, como também observado

por Dias *et al.* (2013). Característico de outras espécies, esta preferência é relacionada ao comportamento reprodutivo de deposição dos ovos em ninhos de folhas na vegetação marginal dos corpos d'água, onde após a eclosão ocorre o início do desenvolvimento dos embriões (Freitas *et al.* 2008). Porém, outros tipos de substratos foram utilizados pela espécie como plantas herbáceas e gramíneas como relatado em outros estudos (Pombal e Haddad 1992, Machado *et al.* 1999).

Assim como o substrato utilizado por indivíduos de *P. tetraploidea*, a maioria dos ninhos observados foi confeccionada de uma ou mais folhas em vegetação arbórea em alturas de 1,2 m a 4 m (média = 2,6 m). Dias *et al.* (2013) relata a maioria dos ninhos de *P. tetraploidea* a uma altura de 50 cm a 1,90 metros, porém confeccionados em uma única folha de liana. A união de folhas na confecção do ninho é relatado também em *P. burmeisteri* (Wogel *et al.* 2004), *P. distincta* (Castanho 1994) e *P. iheringi* (Langnone 1993).

A espécie pode utilizar em ambientes mais abertos folhas de gramíneas exóticas (*Brachiaria* spp.) para sua confecção (obs. pess.) até folhas espinhosas de solanáceas (Pombal e Haddad 1992). O local de instalação e ninhos de folhas assim como a quantidade de folhas está ligado à disponibilidade de microhabitats em diferentes formações vegetais (Dias *et al.* 2013).

A alta densidade de machos registrados quando comparado ao número de fêmeas pode está associado ao longo período de reprodução característico do gênero, já que o seu sucesso reprodutivo de um macho está ligado ao número de participações do indivíduo nas noites de coro (Sullivan e Hinshaw 1992, Wogel *et al.* 2005). Diferente das fêmeas que por sua vez deixam o sítio reprodutivo após a desova, não permanecendo no local devido ao alto risco de predação gerado pela grande concentração de anfíbios que atrai predadores (Castanho 1994).

Dois eventos de predação e comportamento defensivo de *P. tetraploidea* e uma serpente (*Leptodeira annulata*) foram observados onde em apenas uma delas o anfíbio foi consumido após resistir durante alguns minutos segurando firmemente aos galhos, sendo posteriormente engolido. Na outra ocasião um jovem macho de *L. annulata* foi observado se deslocando em direção a um macho de *P. tetraploidea* que vocalizava a 1,5 metros do solo sobre folhas de lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*). A serpente se aproximou pelas costas do anuro desferindo um bote do qual o anfíbio escapou

rolando de costas e atingindo o chão em posição de defesa (“*contracting behavior*”) permanecendo contraída e voltando a vocalizar normalmente após alguns minutos (Nascimento *et al.* 2014).

O comportamento de contração defensiva foi relatado anteriormente para *P. tetraploidea* (Borteiro *et al.* 2014) e reportado também em *P. lemur* (Jungfer e Weygoldt 1994), *P. sauvagii* (Halloy e Espinoza 2000), *P. boliviana* (Vaira 2001), *P. bahiana*, *P. distincta*, *P. nordestina* (Toledo *et al.* 2010), *P. venusta* (Escobar-Lasso e González-Durán 2012) *P. bahiana* e *P. burmeisteri*, (Abrunhosa e Wogel 2004), sendo uma característica da família, tendo sido observado em outros gêneros: *Pithecopus rohdei* (Sazima 1974) e *Phrynomedusa marginata*, bem como na maioria das espécies de anuros que apresentem alguma toxicidade (Toledo *et al.* 2010).

O comportamento reprodutivo de *P. tetraploidea* registrado por nós apresenta pequenas variações quando comparado a outros estudos em relação a sua distribuição espacial como altura de empoleiramento, distância da margem, maior concentração de machos maiores sobre a água bem como no processo de desova e confecção dos ninhos.

Estas diferenças para outras localidades podem estar associadas com a heterogeneidade ambiental, onde um ambiente mais diverso fornece maior amplitude de opções referente aos sítios de vocalização e locais de ovoposição (Afonso e Eterovick 2007, Vasconcelos e Rossa-Feres 2008), quando comparado a ambientes mais homogêneos ou com certo grau de perturbação antrópica, onde a espécie ocorre (Kwet *et al.* 2004; Dias *et al.* 2013).

Estas variações no comportamento sugerem o quão plástica a espécie pode ser, porém necessita de estudos mais aprofundados sobre sua ecologia em outras localidades com diferentes climas e/ou fitofisionomias vegetais onde a espécie tem sua distribuição confirmada, buscando-se conhecer padrões comportamentais e a influência dos fatores bióticos e abióticos sobre a espécie.

## Referências

- Abrunhosa, P. A. and H. Wogel. 2004. Breeding biology of leaf treefrog *Phyllomedusa burmeisteri* (Anura: Hylidae). *Amphibia-Reptilia* 25:125–135.
- Afonso, L. G. and P. C. Eterovick. 2007. Spatial and temporal distribution of breeding anurans in streams in southeastern Brazil. *Journal of Natural History* 41: 949–963.
- Alvares, C. A., J. L. Stape, P. C. Sentelhas, J. L. M. Gonçalves and G. Sparovek. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22: 711-728.
- Ayres, M., M. Ayres Jr., D. L. Ayres, and A. A. Santos. 2007. Bioestat 5.0. USP, São Paulo.
- Brites, V.L.C., R. G. Faria, D. O. Mesquita, and G. R. Colli (in press). The herpetofauna of the Neotropical Savannas. In Unesco-Eolss. (Org.). *Encyclopedia of Life Support Systems - Theme in Tropical Biology and Natural Resources*. Unesco-Eolss, Paris.
- Castanho, L. M. 1994. Historia natural de *Phyllomedusa distincta*, na Mata Atlântica do Município de Sete Barras, Estado de São Paulo (Amphibia, Anura, Hylidae). Dissertação de Mestrado não publicada. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP. 103pp.
- Costa, T.B., L. D. A. Guimarães and R. P. Bastos. 2010. Territorial and mating behavior in *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae) at a temporary pond in west-central Brazil. *Phyllomedusa* 9: 99-108.
- Crump, M. L. and R. H. Kaplan. 1979. Clutch energy partitioning of tropical tree frogs (Hylidae). *Copeia* 1979:626–635.
- Crump, M.L. and N. J. Scott-Jr. 1994. Visual encounter surveys. In *Measuring and Monitoring Biological Diversity -Standard Methods for Amphibians* (W.R. Heyer, M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.A.C. Hayek and M.S. Foster, eds.). Smithsonian Institution Press, Washington, p. 84-92.

- Borteiro, C., D. Baldo, T. S. Kunz, R. Perez, R. P. Eltz and F. Kolenc. 2014. Contracting behaviour in three species of *Phyllomedusa* (Anura: Hylidae: Phyllomedusinae). *Herpetology Notes* 7: 393-395.
- Dias, T. M., F. P. Maragno, B. Madalozzo, C. P. A. Prado and S. Z. Cechin. 2013. Breeding sites of the leaf frog *Phyllomedusa tetraploidea* (Hylidae, Phyllomedusinae) in a forest remnant in southern Brazil. *North-Western Journal of Zoology* 9.
- Duellman, W.E. and L. Trueb. 1994. *Biology of Amphibians*. Baltimore, The Johns Hopkins University Press, 670p.
- Duellman, E., A. B. Marion and S. B. Hedges. 2016. Phylogenetics, Classification, and Biogeography of the Treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). *Zootaxa* 4104 1: 001–109.
- Escobar-Lasso, S. and G. A. González-Duran. 2012. Strategies employed by three Neotropical frogs (Amphibia: Anura) to avoid predation. *Herpetology Notes* 5: 79-84.
- Faivovich, J., C. F. B. Haddad, D. Baêta, K. H. Jungfer, G. F. R. Álvares, R. A. Brandão, C. Sheil, L.S. Barrientos, C. L. Barrio- Amorós, C. A. G. Cruz and W. C. Wheeler. 2010. The phylogenetic relationships of the charismatic poster frogs, Phyllomedusinae (Anura, Hylidae). *Cladistics* 26: 227-261.
- Fisch, F. and D. Port. 2013. Localidades de ocorrência de *Phyllomedusa tetraploidea* Pombal & Haddad, 1992 (Anura: Hylidae: Phyllomedusinae) e novo registro para Santa Catarina, Brasil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão* 32:13-28.
- Freitas, E. B., C. B. De-Carvalho, R. G. Faria, R. C. Batista, C. C. Batista, W.A. C. and A. Bocchiglieri. 2008. Nicho ecológico e aspectos da história natural de *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae, Phyllomedusinae) no Cerrado do Brasil Central. *Biota Neotropica* (8)4.
- Figueiredo-de-Andrade, C. A., J. Caram, and S. P. Carvalho-e-Silva. 2012. Frog eats frog: Report of three cases from the Atlantic rain forest, southeastern Brazil. *Salamandra* 48:230–232.

- Frost, Darrel R. 2019. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0. Electronic data Base accessible at: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>. American Museum at Natural History. New York. USA. Captured on 24 January 2019.
- Haddad, C. F. B.; J. P. Pombal Jr. and R. F. Batistic. 1994. Natural hybridization between diploid and tetraploid species of leaf-frogs, genus *Phyllomedusa* (Amphibia). *Journal of Herpetology*, 28(4):425-430.
- Haddad, C. F. B. and I. Sazima, 1992. Anfíbios anuros da Serra do Japi, p. 188-211.in: Morellato, L. P. C. (Ed.). *História Natural da Serra do Japi: Ecologia e Preservação de uma Área Florestal no Sudeste do Brasil*. Campinas, Edunicamp/ Fapesp, 321 p.
- Haddad, C.F.B. and C.P.A. Prado. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *BioScience*, 55(3):207-217.
- Halloy, M. and R. E. Espinosa. 2000. Territorial encounters and threat displays in the neotropical frog *Phyllomedusa sauvagii* (Anura: Hylidae). *Herpetological Natural History*, 7:175-182.
- Jansen, M. and J. Kohler. 2008. Intraspecific Combat Behavior of *Phyllomedusa boliviana* (Anura: Hylidae) and the Possible Origin of Visual Signaling in Nocturnal Treefrogs. *Herpetological Review* 39(3) 290–293.
- Jungfer, K. H. and P. Weygoldt. 1994. The reproductive biology of the leaf frog *Phyllomedusa lemur* Boulenger, 1882, and a comparison with other members of the Phyllomedusinae (Anura: Hylidae). *Revue Francaise d'Aquariologie* 21:57–64.
- Pombal Jr., J. P. 1997. Distribuição especial e temporal de anuros (Amphibia) em uma poça permanente na Serra de Paranapiacaba, sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Biologia* 57, 583-594.
- Prado C. P. A., M. Uetanabaro and F. S. Lopes. 2000. Reproductive strategies of *Leptodactylus chaquensis* and *Leptodactylus podicipinus* in the Pantanal, Brazil. *Journal of Herptology* 34:135–139.

- Pyburn, W.F. and J. R. Glidewell. 1971. Nests and breeding behavior of *Phyllomedusa hypochondrialis* in Colombia. *Journal of Herpetology* 5:49 – 52.
- Wells, K. D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour* 25, 666-693.
- Wogel, H., P. A. Abrunhosa and P. Pombal Jr. 2006. Chorus Organization of the Leaf-frog *Phyllomedusa rohdei* (Anura, Hylidae). *Herpetological Journal* 16: 21-27.
- Woolbright, L. L. 1989. Sexual dimorphism in *Eleutherodactylus coqui*: selection pressures and growth rates. *Herpetologica* 45: 68–74.
- Langone, J. A., 1993. Notas sobre *Phyllomedusa iheringii* Boulenger, 1886 (Amphibia, Anura, Hylidae). Comunicaciones Zoológicas del Museo De Historia Natural de Montevideo 12(179): 2-7.
- Lavilla, E. O. 2008. Declinaciones poblacionales y extinciones en Anfibios de Argentina. Anales de la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires, Tomo XLII (2): 407-413.
- Machado, R.A., P. S. Bernarde, S. A. B. Morato and L. Anjos. 1999. Análise comparada da riqueza de anuros entre duas áreas com diferentes estados de conservação no município de Londrina, Paraná, Brasil (Amphibia: Anura). *Revista Brasileira de Zoologia* 19: 997-1004.
- Maffei, F. and F. K. Ubaid. 2014. Amphibians of Rio Claro Farm, Lençóis Paulista, São Paulo, Brazil. Canal 6, Bauru, SP, 146 p.
- Martins, M., J.P. Pombal Jr and C.F.B. Haddad. 1998. Escalated aggressive behaviour and facultative parental care in the building gladiator frog, *Hyla faber*. *Amphibia-Reptilia* 19: 65-73.
- Matos, R. H. R., G. V. Andrade. and A. Hass. 2000: Reproductive biology and territoriality of *Phyllomedusa hypochondrialis* in northeastern Brazil. *Herpetological Review* 31: 84-86.
- Motte, M., K. Núñez, P. Cacciali, F. Brusquetti, N. Scott and A. L. Aquino. 2009. Categorización del estado de conservación de los anfibios e reptiles de Paraguay. Cuadernos de Herpetologia, 23(1):5-18.

- Nali, R.C., M. M. Borges and C. P. A. Prado. 2015. Advertisement and release calls of *Phyllomedusa ayeaye* (Anura: Hylidae) with comments on the social context of emission. *Zoologia* 32 (4): 263–269.
- Nascimento, B. T. M., M. Mejia, M. Ellis and F. Maffei. 2013. *Phyllomedusa* spp. (Anura, Hylidae): predation by *Leptodeira annulata* (Serpentes, Dipsadidae). *Herpetologia Brasileira* 2(1): 20-23.
- Oliveira F. F. R., P. A. G. Nogueira and P. C. Eterovick. 2012. Natural history of *Phyllomedusa megacephala* (Miranda-Ribeiro, 1926) (Anura: Hylidae) in southeastern Brazil, with descriptions of its breeding biology and male territorial behavior. *Journal of Natural History*, 46: 117-129.
- Pombal Junior, J. P. & C. F. B. Haddad. 1992. Espécies de *Phyllomedusa* do grupo *burmeisteri* do Brasil oriental, com descrição de uma espécie nova (Amphibia, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 52:217-229.
- Prado C. P. A., M. Uetanabaro and F. S. Lopes. 2000. Reproductive strategies of *Leptodactylus chaquensis* and *Leptodactylus podicipinus* in the Pantanal, Brazil. *Journal of Herpetology* 34:135–139.
- Pyburn, W.F. and J. R. Glidewell. 1971. Nests and breeding behavior of *Phyllomedusa hypochondrialis* in Colombia. *Journal of Herpetology* 5:49 – 52.
- R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available in: <https://www.R-project.org/>.
- Rodrigues, D. J., M. Uetanabaro and F. S. Lopes. 2007. Breeding biology of *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 and *P. sauvagii* Boulenger, 1882 (Anura) from the Cerrado, Central Brazil. *Journal of Natural History*, 41: 1841–1851.
- Rossa-Feres, D. C. and J. Jim. 2001 Similaridade do sítio de vocalização em uma comunidade de anfíbios anuros na região noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 18 (2): 439 – 454.

- Santos, T. G.; D. C. Rossa-Feres and L. Casatti. 2007. Diversidade e distribuição espaço-temporal de anuros em região com pronunciada estação seca no sudeste do Brasil. *Iheringia Série Zoologia*, 97(1): 37-49.
- Sazima, I. 1974. Experimental predation on the Leaf-frog *Phyllomedusa rohdei* by the water snake *Liophis miliaris*. *Journal of Herpetology* 8: 376-377.
- Segalla, V. M., U. Caramaschi, C. A. G. Cruz, T. Grant, C. F. B. Haddad, P. C. A. Garcia, B. V. M. Berneck and J. A. Langone. 2016. Brazilian Amphibians: List of Species. *Herpetologia Brasileira* 5(2), 34-46.
- Shine, R. 1979. Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia*, 297-306.
- Sullivan, B. K., S. H. Hinshaw. 1992. Female choice and selection on male calling behaviour in the grey treefrog *Hyla versicolor*. *Animal Behaviour* 44:733-744.
- Kopp, K., L. Signorelli and R. P. Bastos. 2010. Distribuição temporal e diversidade de modos reprodutivos de anfíbios anuros no Parque Nacional das Emas e entorno, Estado de Goiás, Brasil. *Iheringia Série Zoologia*, (100)3, 192-200.
- Kwet, A., L. Aquino, J. Faivovich, D. Baldo. 2004. *Phyllomedusa tetraploidea*: IUCN Red List of Threatened Species, 2018.<[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>, accessed at 2018.08.07.
- Toledo, L. F., I. Sazima and C. F. B. Haddad. 2010. Is it all death feigning? Case in anurans. *Journal of Natural History* 44: 1979-1988.
- Vaira, M. 2001. Breeding behavior of the leaf frog, *Phyllomedusa boliviana* (Anura, Hylidae). *Amphibia-Reptilia* 22: 421-429.
- Vasconcelos, T.S. and D. C. Rossa – Feres. 2008. Habitat heterogeneity and use of physical and acoustic space in anuran communities in Southeastern Brazil. *Phyllomedusa* 7(2):127-142.
- Wogel, H., P. A. Abrunhosa and J. P. Pombal Jr. 2004. Vocalizations and aggressive behavior of *Phyllomedusa rohdei* (Anura: Hylidae). *Herpetological Review* 35(3): 239-243.

Wogel, H., P. A. Abrunhosa and J. P. Pombal Jr. 2005. Breeding behaviour and mating success of *Phyllomedusa rohdei* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. *Journal of Natural History* 39(22): 2035–2045

Zar, J. 1999: *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey.

## Capítulo 2

Salamandra - German Journal of Herpetology

# Use of photographs to individualize monkey frogs *Phyllomedusa tetraploidea* Pombal & Haddad 1992 in Southeast Brazil

Bruno Tayar Marinho do Nascimento<sup>1,2</sup>, Fábio Maffei<sup>2</sup> & Reginaldo José Donatelli<sup>2</sup>

- 1) Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil
- 2) Laboratório de Ornitologia, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Bauru, SP, Brazil

Corresponding author: Bruno Tayar Marinho do Nascimento, e-mail: [tayarbio@gmail.com](mailto:tayarbio@gmail.com)

**Abstract.** Individualization is an important tool in studies that need to estimate populations, obtain data on natural and behavioral history in several species. For amphibians the methods used to identify these individuals may be temporary or permanent and sometimes involve low cost, but usually invasive techniques. Photo-identification through natural markers is considered non-invasive and effective but little used with this animal group. Here we tested the effectiveness of the method with treefrog *Phyllomedusa tetraploidea* in order to validate it for the species. There were 21 visits from 2011 to 2017 for data collection. The animals were captured, photographed and released in the same place. Data on snout-vent length and weight were recorded. The posterior part of the right thigh was photographed. A total of 277 individuals were photographed and 36 were recaptured. Wild-ID software obtained good performance from the aid of analyzes of similar images. The method proved to be effective over a long period of time since no changes were observed in the patterns of the animal's natural marks.

**Keywords.** Amphibia, photography, mark-recapture, method.

**Resumo.** A individualização é importante em estudos que visam estimar populações, obter dados sobre história natural e comportamental sobre diversas espécies. Para anfíbios os métodos utilizados para se identificar indivíduos podem ser temporários ou permanentes e muitas vezes envolvem técnicas de baixo custo, mas que geralmente são invasivos. A foto-identificação por meio de marcas naturais é considerada não invasiva e eficaz porém pouco utilizada com este grupo animal. Aqui nós testamos a eficácia do método com a perereca *Phyllomedusa tetraploidea* a fim de validá-lo para a espécie. Foram realizadas 21 visitas 2011 a 2017 para coleta de dados. Os animais foram capturados, fotografados e soltos no mesmo local. Dados sobre CRC, peso foram anotados. Foi fotografada a parte posterior da coxa direita. Foram fotografados 277 indivíduos e 36 foram recapturados (12,9%). O software Wild-ID obteve bom desempenho do no auxílio das análises de imagens similares. O método se mostrou eficaz em longo período de tempo uma vez que não foram observadas alterações nos padrões das marcas naturais dos animais.

Palavras-Chave. Amphibia, fotografia, marcação-recaptura, método.

## Introdução

A precisão na contagem dos indivíduos de uma população possibilita um conhecimento aprofundado sobre seus hábitos de vida e comportamento (Bradfield 2004) e frequentemente utilizam métodos de captura/recaptura. Diferentes tipos de marcações podem ser utilizados para reconhecimento dos indivíduos. Em estudos com anfíbios, a amputação de artelho (Donnelly et al. 1994).

É uma técnica muito difundida pelo seu baixo custo, mas extremamente invasiva que muitas vezes causa estresse, mudança de comportamento, infecções e/ou morte de indivíduos marcados (Perry et al. 2011). Em alguns casos é ineficaz a longo prazo por conta da regeneração das partes amputadas (Van Gelder & Strijbosch 1996, Ursprung et al. 2011), sendo algumas vezes defendida por alguns autores por não apresentar taxa de mortalidade significativa (Berger 2001, Liner et al. 2007).

No Brasil, essa técnica já esteve em discussão pelo governo brasileiro (Ofício 02/2012/COINF/CGPEQ/DIBIO) e a Sociedade Brasileira de Herpetologia (Nomura, 2012). É fato que em diversas espécies, esse método é mais eficaz e possível do que métodos menos invasivos. Outros métodos menos invasivos seriam tatuagem (Perret & Joly 2002), implantação de *transponders* (Ireland et al. 2003), *tags* fluorescente (Osbourn et al. 2011), implante visual de elastômero fluorescente (Bull 2009, Schmidt & Schwarzkopf 2010), entre outros.

A fim de minimizar possíveis impactos nas populações de anfíbios estudadas, principalmente quando se trata de espécies endêmicas ou sob algum grau de ameaça (Beausoleil et al. 2004; Bradfield, 2004, Caorsi et al. 2012), alguns pesquisadores têm buscado alternativas envolvendo as marcações utilizando-se para a individualização apenas marcações naturais e/ou padrões de manchas e listras de cada indivíduo através do uso de fotografias.

No Brasil estudos desse tipo foram realizados com as espécies *Bokermannohyla hylax* (Santos et al. 2010), *Melanophryniscus cambaraensis* (Caorsi et al. 2012), *Oloolygon longilinea* (Del Lama et al. 2011), *Pseudis bolbodactyla* (Ramalho et al. 2013), *Pseudis cardosoi* (Miranda et al. 2005) e até mesmo com anuros em estágio larval (Ribeiro & Rabelo 2011).

Das diversas espécies que apresentam padrões de desenhos variados estão as pererecas da família Phyllomedusidae. Dentre elas, está *Phyllomedusa tetraploidea*,

descrita por Pombal & Haddad (1992) em trabalho realizado com espécies do grupo *Phyllomedusa burmeisteri*, no qual foi identificado a tetraploidia da espécie. Sua distribuição se dá pela Mata Atlântica da Argentina, Paraguai e Brasil, onde ocorre nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Dias et al. 2013, Haddad et al. 2013). No interior do estado de São Paulo a espécie também ocorre em áreas de Cerrado (Araujo et al. 2013, Araujo & Almeida-Santos 2011, Maffei et al. 2011, 2015).

Possui certa plasticidade ocorrendo também em áreas abertas e corpos d'água temporários (Bernarde & Anjos 1999). Atualmente classificada como “Least Concern” (Pouco preocupante), mas na Argentina e Paraguai a espécie encontra-se listada como Vulnerável (Lavilla 2008, Motte et al. 2009). Trata-se de uma espécie robusta (CRC até 70 mm) de coloração verde em vida, ventre claro, com o interior dos flancos e coxas laranjas com manchas e faixas irregulares enegrecidas, o que aparentemente facilita sua individualização.

Deste modo, o objetivo deste estudo foi verificar a efetividade da identificação fotográfica por marcas naturais em *Phyllomedusa tetraploidea*, a validação do método avaliando-se a permanência dos desenhos de cada indivíduo através das recapturas e consequentemente estabelecer dados sobre a longevidade da espécie em natureza.

## **Material e métodos**

### *Coleta de dados*

O estudo foi realizado na Fazenda Rio Claro (22°46'35”S 48°53'52”O, altitude 650 m), localizada no município de Lençóis Paulista, estado de São Paulo, sudeste do Brasil. A coleta de dados foi realizada em um corpo d'água temporário com extensão aproximada de seis metros de largura por 12 de comprimento, com grandes variações na época chuvosa, permanecendo seco de Março a Setembro. O local está inserido em meio a plantações de eucalipto (Figura 1), com margens florestadas com espécies de Cerrado e Mata Atlântica (Floresta Estacional Semidecidual), sendo formação típica da região.

Foram realizadas 21 visitas distribuídas nos anos de 2011 (duas visitas), 2012 (seis visitas), 2013 (quatro visitas), 2014 (cinco visitas), 2015 (duas visitas) e 2017 (duas visitas), tendo início aproximadamente na metade do mês de agosto e finalizado em fevereiro, abrangendo toda a estação reprodutiva conhecida para a espécie na região.

Para o registro fotográfico foram utilizadas câmeras digitais: Canon EOS Rebel T3i + lente 18-55 mm e câmera Nikon D5100 + lente 40 mm.

Os registros dos indivíduos foram feitos através de dois métodos utilizados simultaneamente: a procura ativa que consiste em caminhar em velocidade lenta no perímetro e interior do corpo d'água procurando com auxílio de lanterna por exemplares de *P. tetraploidea* empoleirados em galhos e folhas na vegetação. Também foi realizada a busca auditiva que consiste localizar os machos que estejam vocalizando, possibilitando assim encontra-los através do canto característico da espécie.

Os animais foram capturados manualmente e em alguns casos (indivíduos em alturas superiores a dois metros) com auxílio de uma vara telescópica de fibra de vidro. Após a captura, primeiramente foram tomados dados sobre comprimento rostro-cloacal (CRC) utilizando paquímetro (precisão de 0,1 mm) e peso através de uma balança de molas Pesola® 50g. Em seguida foi fotografada a parte posterior da coxa direita de cada animal registrando as manchas e listras escuras que contrastam com a face amarelo-laranja. Concomitante, foram anotados dados ecológicos do indivíduo: altura do poleiro, distância do corpo d'água, tipo de poleiro, atividade de vocalização, porcentagem de cobertura vegetal, tipo de substrato (solo), bem como outras informações pertinentes sobre a história natural da espécie (amplexos, desovas, combates).

Após o processo de obtenção de dados e fotografia, cada animal foi solto o mais rápido possível exatamente onde foi encontrado, minimizando assim qualquer alteração no modo de vida dos espécimes.

### *Análise e individualização*

Cada fotografia foi registrada no banco de dados com base na numeração sequencial dos cartões de memória das câmeras, não havendo assim repetições numéricas para cada foto. As fotografias foram posteriormente recortadas e descoloridas a fim de aumentar a visibilidade das manchas e padrões nas coxas dos anfíbios.

Para auxílio da análise e correspondência de captura/recaptura foi utilizado o programa Wild-ID 1.0 (Bolger et al., 2012), que usa escala algorítmica de transformação (SIFT - Scale Invariant Feature Transform). O *software* compara cada registro com todas as imagens anteriores inseridas no banco de dados. Após esta análise, o programa oferece, para cada um dos registros, 20 fotos selecionadas, onde a

similaridade entre cada imagem é calculada gerando valores ranqueados, para então confirmação visual pelo operador.

Para verificação da permanência das formas e desenhos encontrados na face posterior das coxas de *P. tetraploidea* foram verificadas as recapturas dos indivíduos em mais de uma estação reprodutiva. Todas as recapturas foram detalhadamente analisadas a fim de verificar alterações mínimas nos padrões de cada indivíduo. Marcas como ferimentos e cicatrizes foram desconsideradas, uma vez que as mesmas tendem a desaparecer ao longo do tempo.

## Resultados

Foram obtidas 327 fotografias de 277 indivíduos, sendo que 36 foram recapturados (12,9%). Assumindo-se que cada foto corresponde a um evento de captura a taxa de recaptura correspondeu a 15,2% (n = 50). Oito indivíduos foram recapturados mais de uma vez, sendo que quatro deles foram recapturados duas vezes, três deles recapturados três vezes, e um recapturado cinco vezes (Tabela 1). O restante (n = 28) conta apenas com uma recaptura.

A taxa de recapturas em uma mesma estação reprodutiva foi de 46 % (n = 23) e a taxa de recapturas entre estações diferentes foi de 54% (n = 27). O menor intervalo entre captura e recaptura em uma mesma estação reprodutiva foi de seis dias (indivíduos P01 e P02) e o maior intervalo entre estações reprodutivas diferentes foi de 771 dias (indivíduos P03 e P04).

Não foram observadas mudanças nos padrões geométricos das coxas dos indivíduos com intervalos de recapturas em mesma estação reprodutiva, nem em grandes intervalos entre estações reprodutivas diferentes permitindo assim o reconhecimento dos mesmos após um longo período (dois anos e 41 dias) desde o primeiro registro.

**Tabela 1. Indivíduos de *Phyllomedusa tetraploidea* (alfanumérico), data de captura, data de recaptura, intervalo entre captura/recaptura, comprimento rostro-cloacal (mm), peso (gramas) e número da foto.**

Ind.	Captura	Recaptura	Intervalo (Dias)	CRC	Peso	Foto
P01	23/11/2011			61	16	2210
		29/11/2011	6	68,8	14	2452
P02	23/11/2011			63,6	15	2212

<b>Ind.</b>	<b>Captura</b>	<b>Recaptura</b>	<b>Intervalo (Dias)</b>	<b>CRC</b>	<b>Peso</b>	<b>Foto</b>
		29/11/2011	6	62,7	12,5	2457
<b>P03</b>	10/10/2012			60,5	13	0667
		20/11/2014	771	62	12	0455
<b>P04</b>	10/10/2012			59	14,5	0669
		20/11/2014	771	67	15,5	0465
<b>P05</b>	10/10/2012			64,7	14	0713
		06/11/2012	27	65	13	0290
<b>P06</b>	10/10/2012			51,7	11	0987
		06/11/2012	27	54	12	1259
<b>P07</b>	22/10/2012			63	12,5	0066
		26/12/2012	55	62	12	7067
<b>P08</b>	22/10/2012			70	15	0094
		10/10/2013	353	78	16	1046
		26/11/2013	400	69	13	2730
<b>P09</b>	22/10/2012			65	13	0078
		26/12/2012	65	61	11,5	7080
		10/10/2013	353	66	12	1023
		30/12/2013	434	62	12	0088
		23/10/2014	731	65	12	0028
		05/11/2014	744	63	12	0096
<b>P10</b>	22/10/2012					0105
		10/10/2013	353	74	13	1053
<b>P11</b>	06/11/2012			66,2	13	0287
		20/11/2012	14	65	14	3547
		04/12/2012	28	68	12	3894
<b>P12</b>	20/11/2012			60	13	3545
		04/12/2012	14	67	14	3888
<b>P13</b>	05/11/2014					100
		18/12/2014	43			1111
<b>P14</b>	04/12/2012			65	12	3903
		12/09/2013	282	67	11,5	0784
<b>P15</b>	04/12/2012			66	12	3904
		10/10/2013	310	74	14	1029
		26/11/2013	357	67	12	2743
<b>P16</b>	26/12/2012			64	10	7087
		10/10/2013	288	65	12	1091
<b>P17</b>	26/12/2012			66	11	7096
		10/10/2013	288	75	15	1051
<b>P18</b>	26/12/2012			67	9,5	7097
		26/11/2013	335	68	10	2779
		30/12/2013	369	63	11	0131
		05/11/2014	679	64	10	0131
<b>P19</b>	26/12/2012			67	11	7106
		12/09/2013	260	69	12	0787
		10/10/2013	288	76	13	1042
		18/12/2014	721	67	10,5	8207
<b>P20</b>	04/12/2012			64	10	3890
		12/09/2013	282	60	11	0786
		26/11/2013	357	64	11	2733

<b>Ind.</b>	<b>Captura</b>	<b>Recaptura</b>	<b>Intervalo (Dias)</b>	<b>CRC</b>	<b>Peso</b>	<b>Foto</b>
		30/12/2013	391	58.7	10	0138
<b>P21</b>	10/10/2013			72	12	1030
		30/12/2013	81	59,7	11	0113
<b>P22</b>	10/10/2013			67	11	1084
		30/12/2013	81	60	15	0137
<b>P23</b>	10/10/2013			64	13	1059
		20/11/2014	406	63	12,5	0456
<b>P24</b>	26/11/2013			66	10	2766
		15/01/2015	415	65	11	8462
<b>P25</b>	10/10/2013			65	16	1089
		26/11/2013	47	69	13	2780
<b>P26</b>	30/12/2013			56	10	1024
		10/10/2013	81	69	10,5	0101
<b>P27</b>	30/12/2013			60	13	103a
		15/01/2015	381	57	12	8482
<b>P28</b>	05/11/2014			63	9	0141
		20/11/2014	15			0525
<b>P29</b>	05/11/2014			64	12	0125
		20/11/2014	15	60	12	0553
		18/12/2014	43	68	10	1106
<b>P30</b>	20/11/2014			62	12	0533
		18/12/2014	28	61	11	1137
<b>P31</b>	18/12/2014			61	11	1140
		15/01/2015	28	58	12	8488
<b>P32</b>	18/12/2014			70	11	8210
		09/12/2015	356	68	12	0369
<b>P33</b>	05/11/2014			61	9	0180
		20/11/2014	15	54	9	0539
<b>P34</b>	05/11/2014			65	11	0117
		20/11/2014	15	62	11	0544
<b>P35</b>	05/11/2014			66	10	7583
		20/11/2014	15	63	11	0551
<b>P36</b>	20/11/2014			60	12	0556
		18/12/2014	28	65	10	1110

## Discussão

A análise através do programa Wild-ID mostrou-se eficaz na comparação e identificação visual dos indivíduos capturados/recapturados já que permite visualizar lado a lado as imagens mais semelhantes do banco de dados. Porém, mostrou tendência a apresentar altos valores de ranking quando comparadas imagens de indivíduos diferentes com padrões de desenhos parecidos entre si em várias ocasiões.

Os altos valores de similaridade podem estar atribuídos também a variações no ângulo entre as fotografias obtidas em campo, reflexo do flash sobre a superfície da pele lisa e úmida dos anfíbios ou nível de nitidez das imagens recortadas, o que provavelmente causa um “distúrbio de leitura” do *software* fazendo com que o mesmo gere um alto coeficiente de similaridade ao comparar imagens com padrões da coxa muito parecidos.

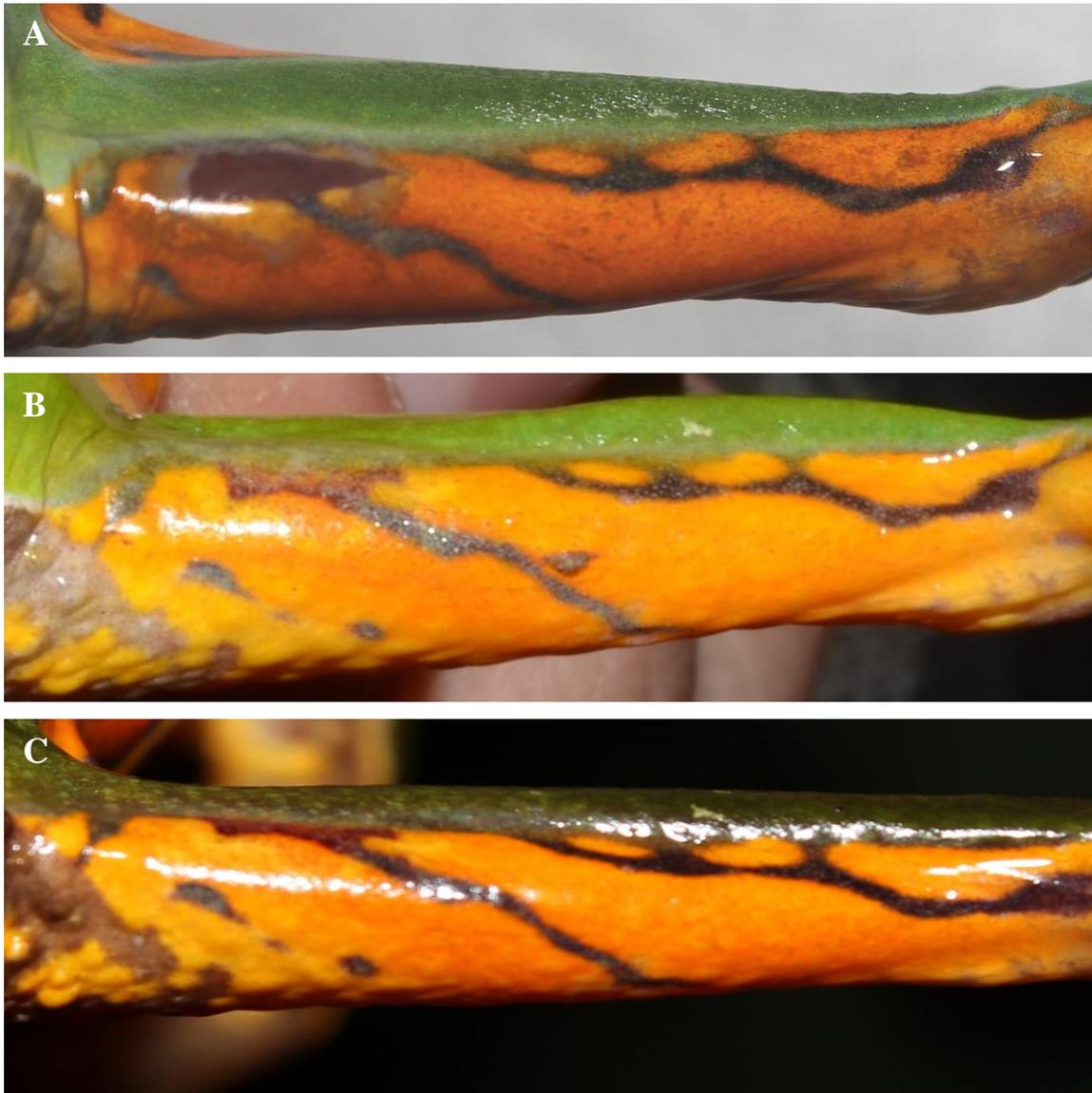
Sendo assim, a qualidade da fotografia (ângulo e posição do animal, nitidez e eventuais reflexos de luz) pode afetar a capacidade de identificar indivíduos (Kelly 2001, Speed et al. 2007, Bolger et al. 2011, Del Lama et al. 2011). Porém, devem-se levar em consideração estes fatores ao se obter fotografias em campo, onde há inúmeras dificuldades típicas de ambientes não controlados (animais em plena atividade dificultando o manuseio, liberação de secreção, menor tempo de manuseio possível, etc.).

Embora não esteja livre de erros, o uso do *software* é vantajoso uma vez que diminui o tempo de comparação, tendo se em vista o grande volume de imagens no banco de dados. Segundo Elgue et al. (2014), outra vantagem está associada a não criação de falsos positivos uma vez que o software necessita de um operador para confirmação visual, conforme foi observado no presente estudo.

A porcentagem de recapturas é relativamente baixa comparada ao total de capturas e pode estar associada a diversos fatores: índice de predação no sítio reprodutivo (Nascimento et al. 2014), flutuação populacional característica em anfíbios de reprodução longa e principalmente o fato de que em populações com grandes densidades os animais marcados e não marcados têm a mesma probabilidade de serem capturados (Miranda et al., 2005).

Apesar da baixa taxa de recaptura, pouco mais da metade (54%) se deu entre intervalos de longos períodos, mostrando que o método é eficaz em longo prazo para a espécie, já que os indivíduos recapturados em um ou dois anos aproximadamente, não tiveram nenhuma mudança das marcas. A mudança de coloração em anfíbios ocorre quando os cromatóforos sofrem rearranjo em escala temporal devido a luz, temperatura, hormônios ou outros estímulos (Kenyon et al., 2010).

Um indivíduo foi registrado com ferimento na coxa fotografada (Figura 1) e subsequente processo de cicatrização, porém não houve interferência do processo referente à análise de captura/ recaptura durante o uso do *software*.



**Figura 1.** Indivíduo P15 com ferimento e processo de cicatrização (A = 04/12/2012; B = 10/10/2013; C = 26/11/2013).

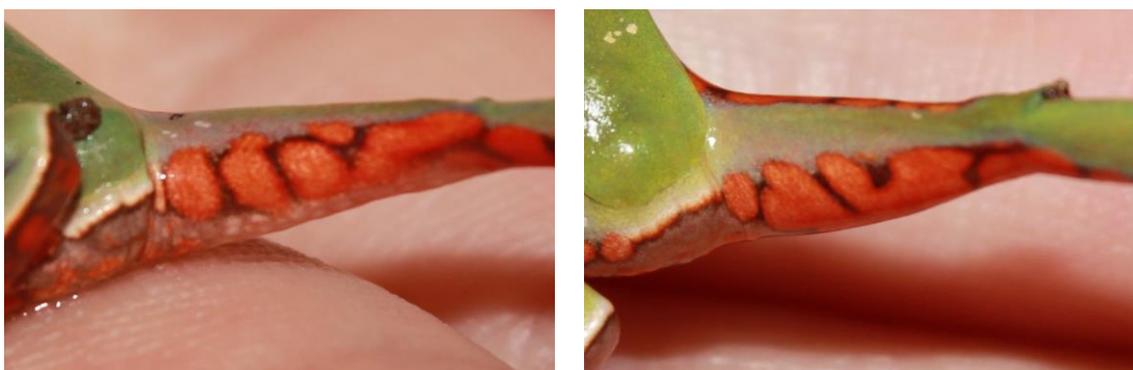
Mesmo sendo observado em alguns casos padrões muito parecidos de um indivíduo para outro, em nenhum momento houve repetição dos desenhos encontrados entre os animais capturados. É interessante ressaltar que não há nem mesmo a repetição das marcações nos membros de um mesmo indivíduo, ou seja, coxas direita e esquerda apresentam marcas totalmente diferentes em um mesmo animal.

Em estudo com *Pithecopus azureus* utilizando-se das marcações naturais localizadas no flanco direito de 12 machos e 3 fêmeas, os padrões também foram únicos em cada indivíduo e não se alteraram ao longo de nove semanas em que os animais foram

mantidos em cativeiro, havendo apenas pequenas mudanças no tom de coloração das faixas escuras (Da Rocha, 2013).

A técnica também foi utilizada em campo por Borges et al. (2018) com *Pithecopus ayeaye* (Phyllomedusidae) em estudo sobre comportamento reprodutivo e fidelidade de sítio de vocalização, onde o método possibilitou o registro de 47 machos e 4 fêmeas sendo que 14 machos foram recapturados em um período de 13 meses após a captura.

Alguns indivíduos recém-metamorfoseados também foram capturados durante nosso estudo e fotografados (Figura 2) e aparentemente assim que estabelece o modo de vida terrestre os jovens de *P. tetraploidea* já apresentam os desenhos característicos da espécie bem definidos, evidenciando que estas características são determinadas logo ao fim da fase aquática dos girinos, mantendo-se ao longo de sua vida. Isto também foi constatado por Miranda et al. (2005) com *Pseudis cardosoi* (Anura: Hylidae) em que as marcas nas coxas estão definidas antes da metamorfose se completar, se mantendo iguais até o animal atingir a fase terrestre.



**Figura 2.** Marcas naturais na face posterior da coxa de jovens recém-metamorfoseados de *Phyllomedusa tetraploidea*.

Utilizar-se de marcas naturais é uma alternativa segura tanto para os animais estudados, quanto para obtenção de dados, já que algumas espécies não sofrem alterações de seus padrões e possuem grande variação permanecendo inalterada até o fim de sua vida.

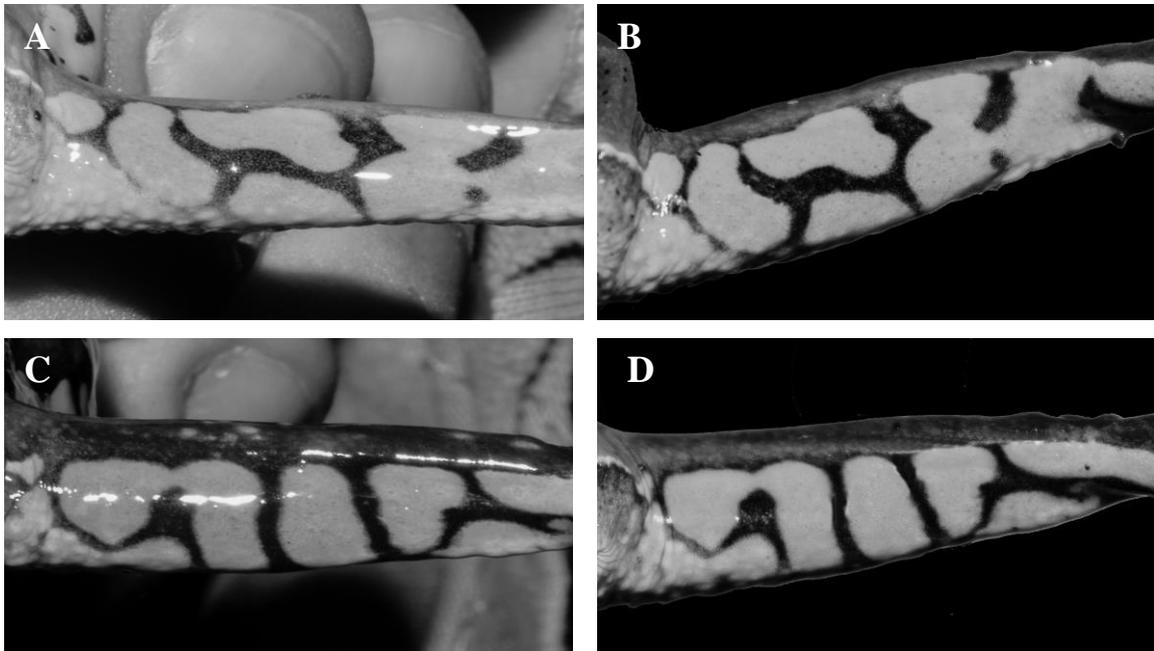
Outros métodos podem vir a se perder como, por exemplo, Heard et al. (2008) constatou a perda de “tags” alfanuméricas cerca de um mês após implantadas em 8,33% dos jovens de *Litoria raniformis* devido a ferimentos que demoraram a cicatrizar não restando os marcadores e ainda constatou erros de identificação em casos de não reconhecimento de letras e/ ou números.

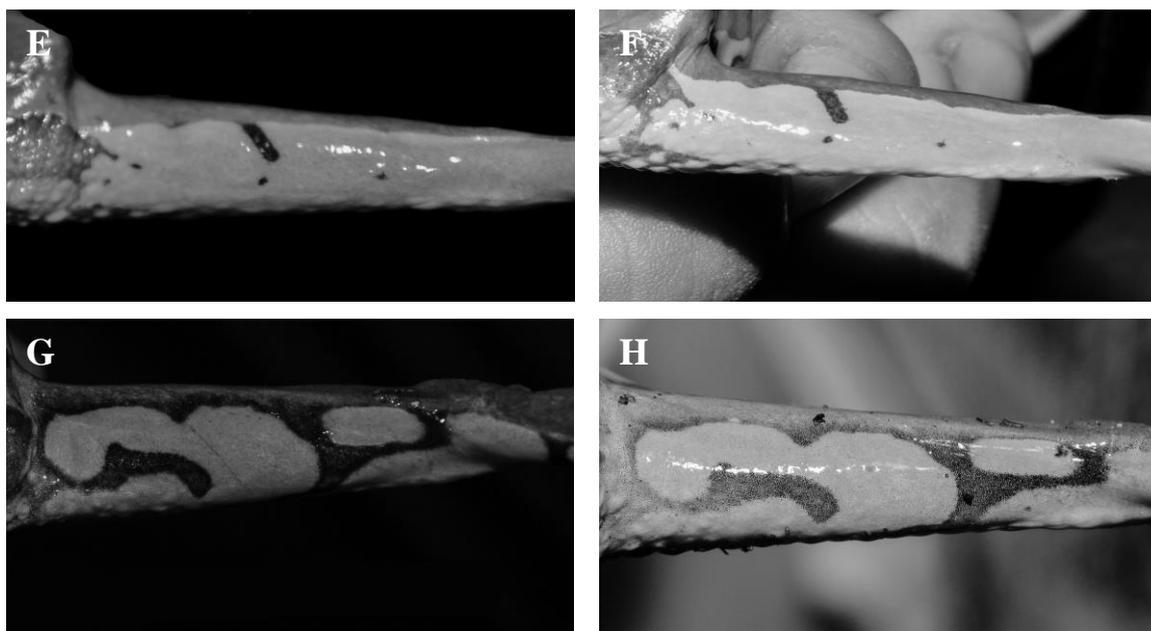
Estes erros podem trazer problemas em alguns estudos ecológicos criando-se falsos negativos, podendo superestimar o tamanho de uma população (Donnelly & Guyer, 1994; Bolger et al., 2012) influenciando e dificultando planos de conservação.

O uso de marcações naturais está relacionado ao mínimo impacto quando comparado a alguns métodos amplamente utilizados como o corte de artelhos (*toe-clipping*) em que são amputadas parte dos dedos. Segundo Golay e Durrer (1994), que realizaram estudo com *Epidalea calamita* (Bufonidae) utilizando este método, mais de 18% dos animais marcados e recapturados possuíam inflamação nas patas dianteiras ou traseiras, variando de infecção do dedo amputado até a necrose completa dos pés.

Em alguns casos o método torna-se impreciso já que alguns anuros perdem naturalmente parte dos dedos provavelmente por eventos predatórios (Miranda et al. 2005) ou sofrem regeneração completa dos artelhos após o corte (Ursprung et al. 2011).

A individualização através de marcas naturais pode ser uma ferramenta utilizada para estimar a longevidade *in situ* já que no presente trabalho foram recapturados quatro indivíduos (P03, P04, P09 e P019) atingiram pouco mais de dois anos já em idade reprodutiva (Figura 3).





**Figura 3.** Marcas naturais e intervalos em dias: P03 (A e B = 771 dias), P04 (C e D = 771 dias), P09 (E e F = 744 dias) e P019 (G e H = 721 dias).

Os poucos dados existentes sobre longevidade para algumas espécies de anuros geralmente são obtidos de cativeiro onde algumas espécies são mantidas como animais de estimação como, por exemplo, *Agalychnis callidryas*, uma das espécies de anfíbios mais comercializados no exterior possuindo registros de até 4,1 anos de idade (Snider and Bowler, 1992) em cativeiro.

Dados sobre a longevidade de algumas espécies de anfíbios têm sido obtidos através da cronologia-esquelética (skeletochronology) (Kumbar & Pancharatna, 2001; Guarino et al., 2003; Altunişik & Özdemir, 2013, Bionda et al., 2015) que é baseado nas linhas anuais dos ossos formadas por crescimento interrompido causado por hibernação (Bionda et al, 2015) obtido através do corte de falanges. Este tipo de estudo vem como uma alternativa de curto prazo a ferramenta de captura/ recaptura que por sua vez consome tempo demasiado (Marangoni et al., 2012).

Ao contrário de outros métodos que use utilizam de marcações artificiais e/ou cirúrgicas, as fotografias não oferecem riscos a integridade física diferente de outras que stressam e mutilam o animal (Del Lama et al. 2011). Machos de *P. tetraploidea* depois de fotografados voltaram à atividade de vocalização minutos depois da soltura. No caso de amplexos, os indivíduos foram colocados próximos após o registro das imagens sendo que em alguns casos, finalizaram a construção dos ninhos e concluíram o processo de postura.

Por fim, o método de individualização por meio da fotografia de marcas naturais se mostrou eficaz com *P. tetraploidea* e o sucesso da técnica está atribuído a grande diversidade de formas geométricas encontradas na espécie das quais não se repetiram entre indivíduos. A confiabilidade se deu pelos grandes intervalos entre captura e recaptura que em alguns casos passaram de dois anos onde não foram observadas alterações nos padrões das marcas, mesmo em casos de pequenos ferimentos e processos de cicatrização demonstrando assim a viabilidade do método com a espécie como possivelmente para outras dentro da família Phyllomedusidae.

## Referências

Altunişik, A. & N. Özdemir (2013): Body size and age structure of a highland population of *Hyla orientalis* Bedriaga, 1890, in northern turkey (Anura: hylidae).- Herpetozoa, 26 (1/2): 49 – 55.

Araujo, C O., D. T. Correa & S. M. A. Santos (2013): Anuros da Estação Ecológica de Santa Bárbara, um remanescente de formações abertas de Cerrado no estado de São Paulo. - Biota Neotropica, 13(3): 230-240.

Araujo, C.O. & S. M. Almeida-Santos. (2011): Herpetofauna in a cerrado remnant in the state of Sao Paulo, Southeastern Brazil.- Biota Neotropica, 11(3).

Beausoleil, N.J., D.J. Mellor & K.J. Stafford (2004): Methods for marking New Zealand wildlife: amphibians, reptiles and marine mammals. Department of Conservation, Wellington, 147 pp.

Berger, L. (2001): The effect of toe-clipping on survival in metamorphs of western Palearctic water frogs (Anura, Ranidae). - Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin, 77(1):87-90.

Bernarde, P. S. & L. Anjos, (1999). Distribuição espacial e temporal da anurofauna no Parque Estadual Mata dos Godoy, Londrina, Paraná, Brasil (Amphibia, Anura). Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia PUCRS, Série Zoologia, 12:111-140.

Bionda, C.L., S. Kost, N. E. Salas, R. C. Lajmanovich, U. Sinsch, & A. L. Martino, (2015): Age structure, growth and longevity in the common toad, *Rhinella arenarum*, from Argentina. - Acta Herpetologica, 10(1): 55-62.

Bradfield, K.S. (2004): Photographic identification of individual Archey's frogs, *Leiopelma archeyi*, from natural markings. DOC Science Internal Series 191. Department of Conservation, Wellington. 36p.

Bolger, D.T., T. A. Morrison, B. Vance, D. Lee & H. Farid. 2012. A computer-assisted system for photographic mark–recapture analysis. - *Methods in Ecology and Evolution*, 3: 813-822.

Borges, M.M., R. C. Nali, B. F. Fiorillo, & C. P. A. Prado (2018): Site fidelity, reproductive behavior and investment in the Brazilian Reticulate leaf Frog, *Pithecopus ayeaye* Lutz, 1966 (Anura: Phyllomedusidae). – *Herpetozoa*, 31 (1/2): 61 – 68.

Bull, E. L. (2009): Dispersal of newly metamorphosed and juvenile western toads (*Anaxyrus boreas*) in northeastern Oregon, USA. – *Herpetological Conservation and Biology*, 4: 236–247.

Caorsi, V.Z., R. R. Santos & T. Grant. (2012): Clip or Snap? An Evaluation of Toe-Clipping and Photo-Identification Methods for Identifying Individual Southern Red-Bellied Toads, *Melanophryniscus cambaraensis*. - *South American Journal of Herpetology*, 7(2), pp79-84.

Da Rocha, S. B. (2013): Identificação por marcas naturais e estimativa de parâmetros populacionais de *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae) em uma área de Cerrado. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. 50p.

Del Lama, F., Rocha, M.D. Andrade, M.A. & Nascimento, L.B. (2011): The use of photography to identify individual tree frogs by their natural marks. *South American Journal of Herpetology*, 6(3), 198-204.

Donnelly, M.A. & C. Guyer. (1994): Estimating population size - Mark-recapture. pp. 183-200. In: W.R. Heyer, M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.A.C. Hayek, M.S. Foster, (Eds). *Measuring and Monitoring Biological Diversity - Standard Methods for Amphibians*. Smithsonian Institution Press. Washington D. C.

Dias, T. M., F. P. Maragno, B. Madalozzo, C. P. A. Prado & S. Z. Cechin. (2013): Breeding sites of the leaf frog *Phyllomedusa tetraploidea* (Hylidae, Phyllomedusinae) in a forest remnant in southern Brazil. *North-Western Journal of Zoology* 9.

Elgue, E, G. Pereira, F. Achaval-Coppes & R. Maneyro. (2014): Validity of photo-identification technique to analyze natural markings in *Melanophryniscus montevidensis* (Anura: Bufonidae). – *Phyllomedusa*, 13(1): 59–66.

Golay, N., H. Durrer. (1994): Inflammation due to toe clipping in natterjack toads (*Bufo calamita*). – *Amphibia – Reptilia*, 15: 81-83.

Guarino, F.M., S. Lunardi, M. Carlomagno, & S. Mazzotti. (2003): A skeletochronological study of growth, longevity, and age at sexual maturity in a population of *Rana latastei* (Amphibia, Anura). - *Journal of Biosciences*, 28: 775–782.

Haddad, C. F. B., L.F. Toledo, C.P.A. Prado, D. Loebmann, J.L. Gasparini & I. Sazima (2013): *Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica: Diversidade e Biologia*. São Paulo, Editora Anolis Books. 544p.

Heard, G.W., M. P. Scroggie & B. Malone. (2008): Visible Implant Alphanumeric tags as an alternative to toe-clipping for marking amphibians – a case study. - *Wildlife Research*, 35: 747–759.

Ireland, D., N. Osbourne & M. Berrill. (2003): Marking medium-to large-sized anurans with passive integrated transponder (PIT) tags. - *Herpetological Review*, 34: 2003.

Kelly M. (2001): Matching: An example from Serengeti cheetahs. *Cat News*, 29.

Kenyon, N., A. D. Phillott & R. A. Alford. (2010). Temporal Variation in Dorsal Patterns of Juvenile greeneyed tree frogs, *Litoria genimaculata* (Anura: Hylidae). - *Herpetological Conservation and Biology*, 5(1): 126-131.

Kumbar, S. M. & P, K. (2001): Determination of age, longevity and age at reproduction of the frog *Microhyla ornata* by skeletochronology. - *Journal of Bioscience*, 26(2): 265–270.

Lavilla, E. O. (2008): Declinaciones poblacionales y extinciones en Anfibios de Argentina. Anales de la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires, Tomo XLII (2): 407-413.

Liner, A.E., L.L. Smith., & S.B. Castleberry. (2007): Effects of Toe-Clipping on the Survival and Growth of *Hyla squirella*. - Herpetological Review, 38(2): 143–145.

Maffei, F., F. K. Ubaid & J. Jim. (2011): Anurans in an open cerrado area in the municipality of Borebi, São Paulo state, Southeastern Brazil: habitat use, abundance and seasonal variation. - Biota Neotropica, 11(2).

Maffei, F., B. T. M. Nascimento, G. M. Moya & R. J. Donatelli. (2015): Anurans of the Agudos and Jaú municipalities, state of São Paulo, Southeastern Brazil.- Check List, 11: 1645.

Marangoni, F., D. A. Barrasso, R. Cajade, & G. Agostini. (2012): Body size, age and growth pattern of *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leiuperidae) of Argentina. - North-Western Journal Of Zoology, 8 (1): 63-71.

Miranda, T., M. Ebner, M. Solé & A. Kwet. (2005): Estimativa Populacional de *Pseudis cardosoi* (Anura, Hylidae) com emprego de método fotográfico para reconhecimento individual. - Biociências, 3(1): 49-54.

Motte, M., K. Núñez, P. Cacciali, F. Brusquetti, N. Scott & A. L. Aquino. (2009): Categorización del estado de conservación de los anfibios e reptiles de Paraguay. Cuadernos de Herpetologia, 23(1):5-18.

Nascimento, B.T.M., M. Mejia, M. Ellis & Maffei, F. (2014): *Phyllomedusa* spp. (Anura, Hylidae): predation by *Leptodeira annulata* (Serpentes, Dipsadidae). - Herpetologia Brasileira, (2)1.

Nomura, F. (2012): Normatização da atividade do biólogo no manejo de animais silvestres: a polêmica em torno da iniciativa do CFBio. Herpetologia Brasileira, 1(1): 32-34.

Osbourn, M. S., D. J. Hocking, C. A. Conner & W. E. Peterman. (2011): Use of fluorescent visible implant alphanumeric tags to individually mark juvenile ambystomatid salamanders. *Herpetology Review* 42:43–47.

Perret, N., P. Joly, (2002): Impacts of tattooing and pitting on survival and fecundity in the Alpine Newt (*Triturus alpestris*). *Herpetologica* 58: 131-138

Perry, G., M. C. Wallace, D. Perry, H. Curzer & P. Muhlberger. (2011). Toe Clipping of Amphibians and Reptiles: Science, Ethics, and the Law. - *Journal of Herpetology*, 45(4): 547–555.

Pombal Junior, J. P. & C. F. B. Haddad. (1992): Espécies de *Phyllomedusa* do grupo burmeisteri do Brasil oriental, com descrição de uma espécie nova (Amphibia, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 52:217-229.

Ramalho, W.P., R. R. Jorge, L. B. Baiocchi, A. P. Peña, & R. A. P. Pires. (2013). Study on the population structure of the paradoxical frog, *Pseudis bolbodactyla* (Amphibia: Anura: Hylidae), using natural markings for individual identification. – *Zoologia*, 30 (6): 623–629.

Ribeiro, R. & R. Rabelo.(2011). Survival of *Alytes cisternasii* tadpoles in stream pools: a capture-recapture study using photo-identification. - *Amphibia-Reptilia*, 32: 365-374.

Santos, M. A., E. D. Lutzer & R. R. Laps. (2010). Use of Natural Marks to Identify Individual *Bokermannohyla hylax* (Amphibia: Anura). - *IRCF Reptiles & Amphibians*, (17)4: 238-241.

Schmidt, K. & L. Schwarzkopf. (2010): Visible implant elastomer tagging and toe-clipping: effects of marking on locomotor performance of frogs and skinks. - *Herpetological Journal*, 20: 99–105.

Snider, A.T. & J. K. Bowler. (1992). Longevity of reptiles and amphibians in North American collections. *Society for the Study of Amphibians and Reptiles*, Oxford, Ohio . 40p.

Speed, C.W., M. G. Meekan & C. J. A. Bradshaw. (2007). Spot the match – wildlife photo-identification using information theory. - *Frontiers in Zoology*, (4)2: 1-11.

Van Gelder, J. & H. Strijbosch, (1996): Marking amphibians: effects of toe clipping on *Bufo bufo* (Anura: Bufonidae). *Amphibia-Reptilia*, Leiden, n. 17, p. 169-174.gelder

Ursprung,E., M. Ringler, R. Jehle & W. Hödl. (2011). Toe regeneration in the neotropical frog *Allobates femoralis*. - *Herpetological Journal*, 21: 83-86.