
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, EVOLUÇÃO E
BIODIVERSIDADE**

**INVESTIMENTO EM ESTRATÉGIAS PRÉ E PÓS-ACASALAMENTO EM
ESPÉCIES DE *Bokermannohyla* (ANURA: HYLIDAE) DO PARQUE ESTADUAL
DO IBITIPOCA, MINAS GERAIS**

FELIPE MESSIAS LEANDRO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, EVOLUÇÃO E
BIODIVERSIDADE

INVESTIMENTO EM ESTRATÉGIAS PRÉ E PÓS-ACASALAMENTO EM
ESPÉCIES DE *Bokermannohyla* (ANURA: HYLIDAE) DO PARQUE ESTADUAL
DO IBITIPOCA, MINAS GERAIS

FELIPE MESSIAS LEANDRO

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia do Câmpus de Rio Claro,
Universidade Estadual Paulista, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ecologia, Evolução e
Biodiversidade.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cynthia Peralta
de Almeida Prado

Rio Claro – SP
2025

L437i Leandro, Felipe Messias
Investimento em estratégias pré e pós-acasalamento em
espécies de Bokermannohyla (Anura: Hylidae) do Parque
Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais / Felipe Messias Leandro.
-- Rio Claro, 2025
48 p. : il., tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientadora: Cynthia Peralta de Almeida Prado

1. Biologia Reprodutiva. 2. Seleção Sexual. 3. Aptidão. 4.
Competição Espermática. 5. Caracteres Sexuais. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Investimento em estratégias pré e pós-acasalamento em espécies de Bokermannohyla (Anura: Hylidae) do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais

AUTOR: FELIPE MESSIAS LEANDRO

ORIENTADORA: CYNTIA PERALTA DE ALMEIDA PRADO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ecologia, Evolução e Biodiversidade, área: Biodiversidade pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente



CYNTIA PERALTA DE ALMEIDA PRADO

Data: 16/04/2025 16:20:08-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. CYNTIA PERALTA DE ALMEIDA PRADO (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / UNESP Campus de Jaboticabal

Documento assinado digitalmente



RENATO CHRISTENSEN NALI

Data: 15/04/2025 18:01:58-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RENATO CHRISTENSEN NALI (Participação Virtual)
Departamento de Zoologia / Universidade Federal de Juiz de Fora

Documento assinado digitalmente



FABIO PERIN DE SA

Data: 15/04/2025 17:15:49-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FÁBIO PERIN DE SÁ (Participação Virtual)
Pós-Doutorado do Departamento de Biodiversidade / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro

Rio Claro, 15 de abril de 2025

Dedico essa dissertação à minha família: mãe, pai, Bruno, Pedro, Miguel e Branquinha.

Por sempre me apoiarem independentemente da situação.

Agradecimentos

À minha mãe Cristiane, meu pai Edson, meus irmãos Bruno, Pedro e Miguel, e minha cachorra Branquinha (*in memoriam*). Por serem a base de tudo para mim e sempre estarem ao meu lado me incentivando. Sempre amarei vocês. Também ao restante da minha família, em especial minha tia Luciana, meu tio Clevison e meus primos Natalia e Thiego, que também sempre estiveram ao meu lado.

À minha namorada Giovanna, por sempre me aguentar em todos os momentos e me motivar a ser cada vez melhor, me dando broncas quando necessário, mas também me confortando nos dias difíceis. Te amo.

Às famílias Rocha e Bergamasco, em especial, aos meus sogros Simone e Marcelo, meus “avós” Zé Lucílio, Izabel, Mercedes e Pedro e à tia Leta, por terem me acolhido e sempre me tratado como parte da família. Também, aos pets da família: Susu (*in memoriam*), Chico, Shiva, Nina, Wendy (*in memoriam*) e Poquinha, por serem seres tão amáveis e trazerem alegria a todos nós.

À minha querida orientadora, Dra. Cynthia P. A. Prado, por ter tido a paciência e coragem de aceitar o desafio em orientar alguém tão inexperiente na área da herpetologia e ter me dado a oportunidade de me desenvolver pessoal e profissionalmente. Agradeço, imensamente, por tê-la conhecido e aprendido em todas as nossas conversas. A professora é uma inspiração para mim.

Ao professor Dr. Renato C. Nali, o qual me auxiliou muito durante minhas idas à UFJF e me proporcionou acolhimento em seu laboratório. Também agradeço aos membros do Laboratório de Ecologia Evolutiva de Anfíbios da UFJF, por me receberem tão bem e me ajudarem nesse período. Em especial, ao Eduardo Borges, que foi meu companheiro de campo e enfrentou os perrengues comigo. Gratidão a todos.

Aos amigos que fiz durante todo o percurso, desde aqueles da graduação em Botucatu (Mica e agregados), até os que tive o prazer de conhecer nessa nova fase da minha vida (amigos LaPianos: Érika, Mari, Lê, Lucas e Lô), Jean, Forms, Dips e muitos outros. Vocês são incríveis.

Ao professor Dr. Célio F. B. Haddad, por ter aberto as portas de seu laboratório e facilitado logisticamente o desenvolvimento do meu trabalho e, também, por ter permitido o acesso ao material da Coleção de Anfíbios CFBH.

Ao pessoal do Parque Estadual do Ibitipoca, gestores e funcionários, e ao Instituto Estadual de Florestas de Minas Gerais (IEF-MG), por darem o apoio e permissão para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao pessoal da UNESP de Rio Claro, docentes e servidores técnico-administrativos, por sempre estarem dispostos a ajudar. Ao PPG em EcoEvoBio e ao Programa de Apoio à Pós-Graduação, por todo o suporte e financiamento concedidos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Por último, mas não menos importante, aos anfíbios de todo o mundo, em especial às *Bokermannohyla*, por me mostrarem um novo mundo de exuberância e beleza. Obrigado por existirem.

**“A gente descobre que o tamanho das coisas há que ser
medido pela intimidade que temos com as coisas...”**

Manoel de Barros

RESUMO

Diferentes estratégias de acasalamento resultam de pressões de competição tanto intra quanto intersexual, com consequências para a aptidão dos indivíduos. Os anuros destacam-se pela diversidade de comportamentos reprodutivos, incluindo estratégias de acasalamento. Em geral, os machos vocalizam para atrair parceiras, porém, dependendo do contexto, podem utilizar estratégias alternativas. Considerando a seleção intrasexual, a competição por parceiras pode envolver tanto mecanismos pré quanto pós-acasalamento. Características sexuais pré-acasalamento são aquelas utilizadas em disputas territoriais ou para o monopólio das fêmeas (e.g., tamanho do corpo, armamentos, ornamentos), enquanto as pós-acasalamento estão relacionadas ao sucesso de fertilização em condições de competição espermática (e.g., tamanho dos testículos, morfologia dos espermatozoides). Como tempo e energia são limitados, é esperada uma correlação negativa (*trade-off*) entre características associadas a estratégias pré e pós-acasalamento, como descrito para diferentes grupos animais. Investigamos as características sexuais pré e pós-acasalamento no gênero *Bokermannohyla*, buscando verificar se em espécies sob maior risco de competição espermática, os machos iriam investir mais em estratégias pós-acasalamento (massa de testículos) do que pré-acasalamento (espinho pré-polical e musculatura do antebraço). Também, testamos as hipóteses de que (1) existe uma correlação negativa entre características pré e pós-acasalamento e que (2) existe variação intraespecífica no investimento em estratégias pré e pós-acasalamento, com machos menores investindo mais em testículos para aumentar seu sucesso de fertilização em acasalamentos poliândricos. Nossos resultados sugerem que, em geral, machos de *Bokermannohyla*, ao contrário do esperado, tendem a investir tanto em estratégias pré quanto pós-acasalamento, sendo elas espinho pré-polical e massa testicular, respectivamente. Porém, machos menores de *B. feioi* investiram mais em massa testicular (estratégia pós-acasalamento) do que machos maiores. Ao mesmo tempo, machos menores tenderam a apresentar investimento negativo em largura do antebraço (estratégia pré-acasalamento), relação que se inverteu a partir de um determinado tamanho de corpo. Com relação a *B. ibitipoca*, machos grandes e pequenos investiram de forma semelhante em estratégias pré e pós-acasalamento. Nossos resultados sugerem haver diferentes pressões de seleção sexual dependente do tamanho em *B. feioi*, o que precisa ser testado. Este estudo pode contribuir para ampliar nosso conhecimento sobre a evolução de estratégias de acasalamento, bem como embasar estudos futuros em espécies do gênero e outros anfíbios.

Palavras-chave: Amphibia, seleção sexual, aptidão, competição espermática, caracteres sexuais

ABSTRACT

Different mating strategies result from either intra or intersexual competition, with fitness consequences. Anurans stand out for the diversity of reproductive behaviors, including mating strategies. In general, males call to attract females; however, they may adopt alternative strategies depending on the context. Considering intrasexual selection, competition for mates may include pre- or post-mating mechanisms. Premating sexual traits include those used in territorial disputes or to monopolize females (e.g., body size, ornaments, armaments). Post-mating traits are related to fertilization success in conditions of sperm competition (e.g., testes size, sperm morphology). As time and energy are limited, a negative correlation (trade-off) between traits associated with pre- and post-mating strategies is expected, as already described for different animal groups. Here, we investigated the pre- and post-mating sexual traits in species of the frog genus *Bokermannohyla*. We investigated if in species subjected to high sperm competition risk, males would invest more in post-mating strategies (testes mass) than in premating traits (prepollical spine and forearm muscle). We also tested the hypotheses that (1) there is a negative correlation between pre- and post-mating traits; and (2) that there is intraspecific variation in the investment in pre- and post-mating strategies, with smaller males investing more in testes size to increase fertilization success in polyandrous matings. Our results suggest that, in general, males of *Bokermannohyla*, contrary to our expectations, tend to invest in both pre- and post-mating strategies (prepollical spine and testes, respectively). However, smaller males of *B. feioi* invested more in testes mass (post-mating trait) than larger males. At the same time, smaller males tended to show a negative investment in forearm width (pre-mating trait), a relationship that reversed from a certain body size. Regarding *B. ibitipoca*, smaller and larger males showed similar investment in pre- and post-mating strategies. We hypothesize that there might be different sexual selection pressures on males of *B. feioi* that are size-dependent, which need to be tested. Our study may contribute to broadening our knowledge on the evolution of mating strategies, also providing the basis for future studies on species in this genus and other amphibians.

Keywords: Amphibia, sexual selection, fitness, sperm competition, sexual characters

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
OBJETIVOS E HIPÓTESES	13
MATERIAL E MÉTODOS.....	14
ÁREA DE ESTUDO	14
COLETA DE DADOS	16
Atividade reprodutiva: densidade de machos vocalizando.....	16
Características morfológicas: estratégias pré e pós-acasalamento	16
ANÁLISE DOS DADOS	18
RESULTADOS	19
Características pré e pós-acasalamento e densidade de machos.....	19
Investimento pré e pós-acasalamento em espécies de <i>Bokermannohyla</i>	20
Investimento pré e pós-acasalamento interespecífico	29
Investimento pré e pós-acasalamento intraespecífico	29
DISCUSSÃO.....	34
CONCLUSÕES.....	38
Material suplementar	45

INTRODUÇÃO

A diversidade de estratégias reprodutivas para obtenção de parceiros advém de pressões exercidas pela seleção sexual, influenciando no sucesso reprodutivo e aptidão de machos e fêmeas (DARWIN, 1888; BIRKHEAD & PIZZARI, 2002). Neste contexto, temos a seleção intrasexual, isto é, a competição entre indivíduos do mesmo sexo, geralmente machos, pelo acesso a parceiros sexuais e, a seleção intersexual, aquela em que há a escolha de parceiros sexuais por indivíduos do sexo oposto, geralmente fêmeas escolhendo machos (DARWIN, 1888). A competição por parceiros sexuais pode envolver tanto mecanismos pré quanto pós-acasalamento (BIRKHEAD & MØLLER, 1998; BIRKHEAD & PIZZARI, 2002; SMITH, 2012). Como características associadas à mecanismos de competição pré-acasalamento, podemos citar aquelas utilizadas em disputas territoriais ou para o monopólio/atração das fêmeas, tais como tamanho do corpo, armamentos (e.g., espinhos, chifres, cornos), vocalização e ornamentos (PRESTON *et al.*, 2003; DINES *et al.*, 2015; PINHEIRO *et al.*, 2022; AGUIAR *et al.*, 2023). Características sexuais associadas à competição pós-acasalamento estão relacionadas ao sucesso de fertilização, especialmente sob risco de competição espermática, como tamanho dos testículos, morfologia dos espermatozoides e/ou eficiência de fertilização (DINES *et al.*, 2015; PARKER, 2016; AGUIAR *et al.*, 2023). Dado que os organismos possuem tempo e energia limitados para investir nos diferentes processos biológicos (e.g., manutenção, crescimento, reprodução), a teoria de jogos prevê uma correlação negativa (*trade-off*) entre o investimento em estratégias pré e pós-acasalamento, como já observado para diferentes grupos animais, tanto invertebrados quanto vertebrados (SIMMONS & EMLLEN, 2006; DINES *et al.*, 2015).

A competição espermática é definida como a disputa de gametas de dois ou mais machos que buscam fertilizar os ovócitos de uma única fêmea, geralmente durante acasalamentos poliândricos, isto é, quando fêmeas se acasalam com dois ou mais machos durante um mesmo evento reprodutivo (PARKER, 1970; PRADO *et al.*, 2006; DAVIES *et al.*, 2012; KVARNEMO & SIMMONS, 2013). À medida que a frequência desse comportamento aumenta, há uma pressão para que os machos invistam mais em tamanho de testículos e/ou na produção de espermatozoides, os quais irão atuar como mecanismos de disputa pós-acasalamento, garantindo o sucesso de fertilização (e.g., PARKER, 1990; 2016). Desta forma, como a quantidade desses gametas está diretamente relacionada com a probabilidade de fertilização nos casos em que fêmeas se acasalam com mais de um parceiro,

machos com testículos grandes e ejaculações de melhor qualidade serão favorecidos (PARKER, 1990, 1998; BIRKHEAD, 1995). Muitos estudos correlacionam positivamente a massa testicular relativa (em relação à massa corporal) com a intensidade da competição espermática em diversos táxons, demonstrando que machos que se encontram nesses cenários investem em testículos maiores (PRESTON *et al.*, 2003; SIMMONS & EMLLEN, 2006; FIRMAN & SIMMONS, 2008; DINES *et al.*, 2015; SOMJEE *et al.*, 2015; PARKER, 2016). Para anuros também há relatos de correlação positiva entre massa testicular e a ocorrência de poliandria simultânea, isto é, onde mais de um macho está reprodutivamente associado a uma única fêmea de forma simultânea (e.g., Myobatrachidae, ver ROBERTS *et al.*, 1999; Leptodactylidae, ver PRADO & HADDAD, 2003; Phyllomedusinae, ver PRADO *et al.*, 2006; Hylidae, ver ZAMUDIO *et al.*, 2016 e LÜPOLD *et al.*, 2017; Dicroglossidae e Rhacophoridae, ver LÜPOLD *et al.*, 2017). Porém, considerando-se a diversidade de anuros (FROST, 2024), descrições de comportamentos de poliandria ainda são escassas, em parte pelo fato de a maioria dos anuros apresentar atividade reprodutiva críptica no período noturno (ZAMUDIO *et al.*, 2016). Desta forma, como testículos maiores em anuros, geralmente, estão associados com a ocorrência de acasalamentos poliândricos (JENNIONS & PASSMORE, 1993; BYRNE *et al.*, 2002; PRADO & HADDAD, 2003), a massa testicular das espécies tem sido utilizada como um *proxy* para a ocorrência de competição espermática nesse grupo (ZAMUDIO *et al.*, 2016; LÜPOLD *et al.*, 2017).

O gênero *Bokermannohyla*, atualmente, possui 31 espécies válidas (FROST, 2024), divididas em três grupos principais: grupo de *Bokermannohyla circumdata*, com 19 espécies; grupo de *Bokermannohyla martinsi*, contendo três espécies; e o grupo de *Bokermannohyla pseudopseudis*, com nove espécies (DE VASCONCELOS & GIARETTA, 2003; FAIVOVICH *et al.*, 2005, 2009; LUGLI & HADDAD, 2006a, 2006b; NAPOLI & JUNCÁ, 2006, NAPOLI & PIMENTA, 2009; LEITE *et al.*, 2011, 2012; BRANDÃO *et al.*, 2012; CARVALHO *et al.*, 2012). As espécies, em geral, possuem distribuições restritas ao longo dos domínios brasileiros da Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (LINS *et al.*, 2018). Espécies de *Bokermannohyla* apresentam desovas aquáticas, as quais podem ser depositadas diretamente em ambiente lótico ou lêntico, ou em depressões ou cavidades naturais ou construídas pelos machos (HADDAD & PRADO, 2005). Os machos de diferentes espécies do gênero, em geral, apresentam espinhos pré-polcais e musculatura do antebraço bem desenvolvidos, comumente associados a comportamentos de briga durante disputas

territoriais, ou importantes para o monopólio das fêmeas durante o amplexo (NALI & PRADO, 2012; PINHEIRO *et al.*, 2022).

Apesar de poucos, os dados disponíveis apontam que existe uma grande variação na massa relativa dos testículos entre machos de espécies de *Bokermannohyla*, com médias variando entre 0,27 e 1,6% da massa do corpo (ZAMUDIO *et al.*, 2016). Acasalamentos poliândricos foram diretamente observados para apenas duas espécies, *B. hylax* e *B. luctuosa* (C.P.A. PRADO e C.F.B. HADDAD, com. pess.). Porém, a variação na massa testicular sugere a possibilidade de ocorrência de acasalamentos poliândricos em algumas espécies, com consequente competição espermática (ZAMUDIO *et al.*, 2016). Um recente estudo apontou que machos de algumas espécies de anuros, sob maior pressão de competição espermática, investem mais em estratégias pós-acasalamento (massa de testículos) e menos em estratégias pré-acasalamento (musculatura do antebraço; LÜPOLD *et al.*, 2017).

OBJETIVOS E HIPÓTESES

Este trabalho tem como objetivos principais:

1. Investigar os mecanismos de seleção pré e pós-acasalamento utilizados por três espécies do gênero *Bokermannohyla* (*B. circumdata*, *B. feioi* e *B. ibitipoca*) que ocorrem no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais (CRUZ *et al.*, 2009).
 - a) Verificar as correlações entre tamanho do corpo e características pré e pós-acasalamento nas três espécies do gênero *Bokermannohyla*;
 - b) Investigar se em espécies de *Bokermannohyla* que formam densos agregados reprodutivos, portanto sob maior risco de poliandria e, consequentemente, à competição espermática (LÜPOLD *et al.*, 2017), os machos investem mais em estratégias pós do que pré-acasalamento;
 - c) Verificar se existe um *trade-off* entre características pré e pós-acasalamento utilizadas pelos machos nas três espécies do gênero *Bokermannohyla*;
2. Verificar se existe variação intraespecífica e/ou interespecíficas no investimento em características pré e pós acasalamento.

A partir destes objetivos, testamos as seguintes hipóteses:

1. Existe um *trade-off* entre o investimento em musculatura do antebraço e tamanho do espinho pré-polical, características relacionadas à defesa de território e monopólio de fêmeas (estratégias pré-acasalamento) vs. massa relativa dos testículos, importante na

competição espermática (estratégia pós-acasalamento).

2. Como machos menores da mesma espécie podem adotar comportamentos alternativos para atrair parceiras (ZAMUDIO & CHAN, 2008), testamos se existe variação intraespecífica no investimento em estratégias pré e pós-acasalamento. Esperamos encontrar maior investimento em massa testículos em machos menores, como estratégia de aumentar seu sucesso de fertilização em acasalamentos poliândricos.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

O Parque Estadual do Ibitipoca (PEI) foi criado a partir da Lei Estadual nº 6.126 de 4 de julho de 1973 e é administrado pelo Instituto Estadual de Florestas de Minas Gerais (IEF – MG). Está situado na Serra do Ibitipoca, a qual se localiza dentro da Unidade Geomorfológica da Serra da Mantiqueira (21°43'0"S, 43°54'0"O; Fig. 1). O parque possui uma área total de 1488 hectares e altitudes que variam entre 1050 e 1784 m. Abrange os municípios de Lima Duarte (e o Distrito de Conceição do Ibitipoca), Bias Fortes e Santa Rita do Ibitipoca, no sudeste do Estado de Minas Gerais (ALMG, 1973; FEIO, 1990; IEF-MG, 2023; REIS et al., 2015). O PEI está associado a um clima tropical de altitude e um regime de precipitações com ciclos bem definidos, sendo característicos um período chuvoso (novembro, dezembro e janeiro) e invernos secos (junho, julho e agosto), com uma precipitação anual média de 1395 mm (LEMOS & MELO-FRANCO, 1976; FEIO, 1990). Além disso, possui temperaturas que variam entre 21,5-36 °C no verão e 2-14,5 °C no inverno (DIAS et al., 2002).

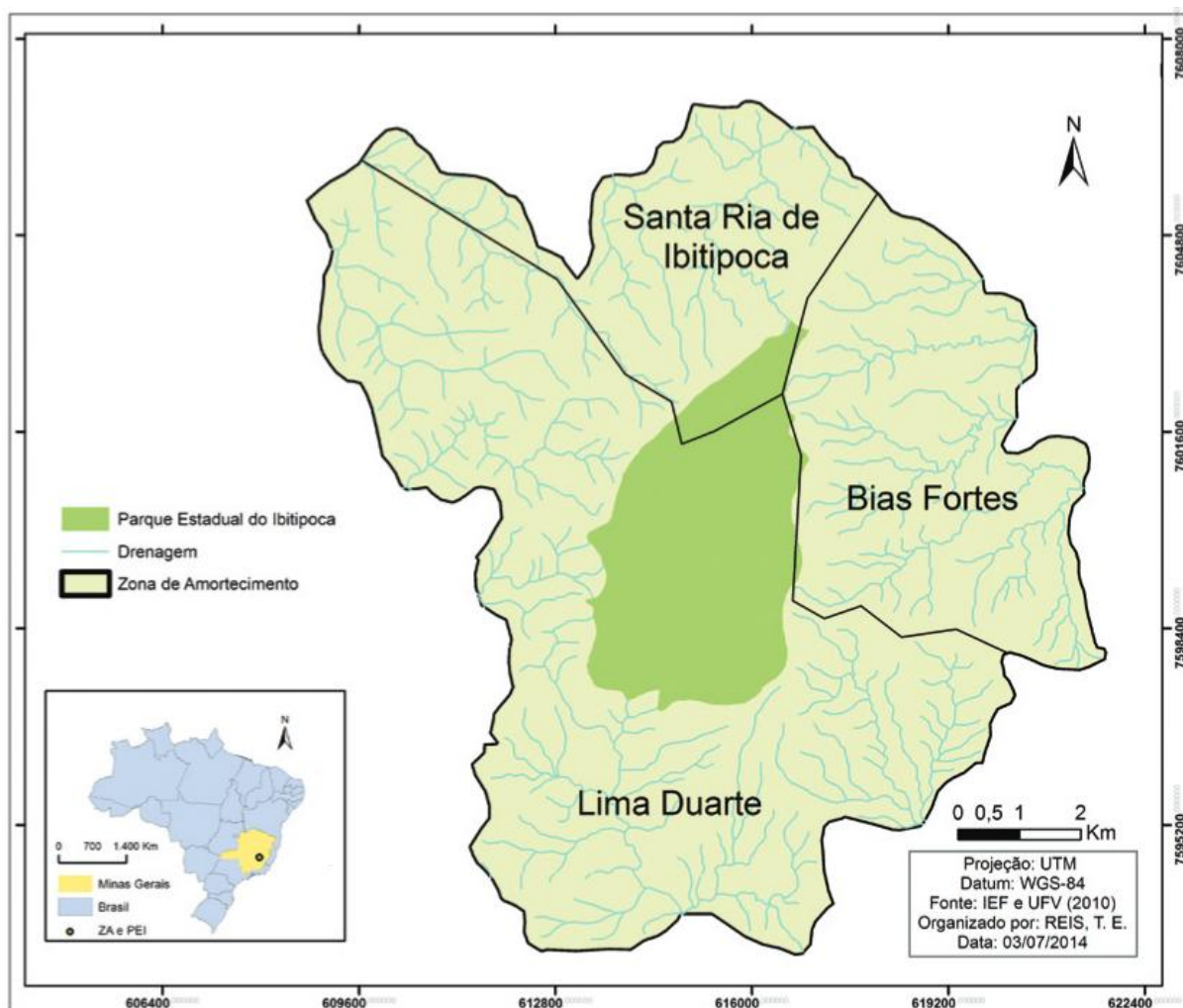


Figura 1. Mapa da localização do Parque Estadual do Ibitipoca, sudeste de Minas Gerais, com seus limites (polígono verde) e zona de amortecimento (traçado preto). O parque abrange partes dos municípios de Lima Duarte, Bias Fortes e Santa Rita do Ibitipoca. Adaptado de Reis et al., 2015.

O parque apresenta diversos tipos de geoambientes (e.g., patamares com espodossolos, cristas ravinadas, escarpas, grotas, mata baixa com cadeia, entre outros), os quais estão associados a diversos tipos de rochas (e.g., quartzito, sedimentos arenosos, sedimentos de cobertura, xisto e/ou quartzo-xisto). Quanto à cobertura vegetal, estão presentes campos de altitude, campos rupestres, matas de galeria e floresta ombrófila densa montana, ecossistemas da Mata Atlântica (DIAS *et al.*, 2002; CRUZ *et al.*, 2009; IEF-MG, 2023). Ainda, apesar de a Serra do Ibitipoca ser um divisor das bacias dos rios Grande e Paraíba do Sul, englobando diversos afluentes dessas drenagens, temos somente parte dos leitos dos rios Salto e Vermelho dentro dos domínios do parque, sendo ambos voltados para o Rio Paraíba do Sul (FEIO, 1990).

COLETA DE DADOS

Os trabalhos de campo foram feitos mensalmente durante o período chuvoso, entre novembro de 2023 e março de 2024, quando ocorre maior atividade reprodutiva das espécies de *Bokermannohyla* do parque (CRUZ *et al.*, 2009). As amostragens tiveram duração de cerca de cinco noites por mês, entre às 18h e 23h, ou até que a atividade dos indivíduos diminuísse. Os machos foram coletados por meio de busca ativa nos sítios reprodutivos no período noturno, com auxílio de lanternas, nas proximidades dos ambientes de reprodução (riachos e lagoas) no Parque Estadual do Ibitipoca, estado de Minas Gerais. Com o objetivo de aumentar a amostragem, foram também medidos machos adicionais depositados na Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Juiz de Fora (CAUFJF; Tabela S1).

Atividade reprodutiva: densidade de machos vocalizando

A cada visita ao campo, as temperaturas do ar e da água, bem como a umidade relativa do ar foram medidas com termo-higrômetro digital (Incoterm 7666.02.0.00) no início da noite. A atividade reprodutiva das espécies foi registrada com base na vocalização dos machos, presença de girinos nos corpos d'água e/ou fêmeas grávidas. Para determinar a densidade de machos em atividade reprodutiva (N machos/m²), a cada noite de coleta, um trecho do riacho foi percorrido por um período delimitado (30 min). Nesse intervalo, o número de machos de cada espécie em atividade de vocalização foi registrado. A área do riacho foi calculada multiplicando-se seu comprimento percorrido por sua maior largura. Quanto ao padrão temporal de reprodução, a espécie foi classificada como explosiva ou prolongada, dado que é conhecido que espécies explosivas formam densos agregados reprodutivos, favorecendo a ocorrência de acasalamentos poliândricos (*sensu* WELLS, 1977).

Características morfológicas: estratégias pré e pós-acasalamento

Machos adultos das espécies de três espécies de *Bokermannohyla* (*B. circumdata*, *B. feioi* e *B. ibitipoca*) foram coletados manualmente, eutanasiados com lidocaína aplicada sobre a pele, fixados com formalina (10%) e preservados em álcool 70% (seguindo McDIARMID, 1994). Posteriormente, o comprimento rostro-cloacal (CRC) e massa corpórea dos machos foram medidos, respectivamente, com paquímetro digital (precisão 0,01 mm) e balança digital (precisão 0,0001 g).

Como características associadas às estratégias pré-acasalamento, isto é, utilizadas em contextos de defesa de território e monopólio de fêmeas (e.g., brigas entre machos, amplexo),

consideramos o comprimento do espinho pré-polical e o desenvolvimento da musculatura do antebraço (LÜPOLD *et al.*, 2017; PINHEIRO *et al.*, 2022). O comprimento do espinho pré-polical (CEPP) foi considerado como a distância entre a extremidade do elemento distal e a extremidade distal do tubérculo metacarpal interno (Fig. 2), sendo as medidas feitas sob estereomicroscópio Leica® acoplado a um programa de captura de imagem (Leica Application Suite). As medidas do antebraço incluíram o comprimento e a maior largura do mesmo (seguindo GREENE & FUNK, 2009). Para obter uma padronização, as medidas foram tomadas sempre do membro anterior esquerdo (Fig. 2). Além disso, as medidas relativas das características pré e pós-acasalamento, utilizadas nas comparações interespecíficas e nas análises de *trade-off* (ver abaixo) foram calculadas a partir da razão entre a medida da característica (i.e., comprimento e largura do antebraço, CEPP, massa testicular) e o tamanho ou massa do corpo (i.e., CRC e massa corporal).



Figura 2. Representação esquemática evidenciando a medida do comprimento do espinho pré-polical (CEPP).

Como característica associada à estratégia pós-acasalamento, consideramos o investimento em massa de testículos. Para tanto, por meio de uma incisão abdominal, um dos testículos dos machos foi retirado e a massa aferida em balança digital (precisão 0,0001 g). Posteriormente, a massa do testículo foi duplicada. A porcentagem da massa dos testículos relativa à massa do corpo foi utilizada como uma medida do investimento reprodutivo dos machos (PRADO & HADDAD, 2003; ZAMUDIO *et al.*, 2016).

O trabalho foi aprovado pela CEUA - Unesp de Rio Claro (protocolo 2138/2023) e as coletas foram autorizadas pelo ICMBio (licença SISBIO número 89949-1) e pelo IEF-MG (Processo 2100.01.0028545/2023-53). Os indivíduos coletados foram depositados na Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Juiz de Fora (CAUFJF).

ANÁLISE DOS DADOS

As variáveis foram testadas quanto à normalidade e homocedasticidade e, quando necessário, foram logaritmizadas para cumprir tais pressupostos (ZAR, 1999). Em casos de variáveis com distribuições não normais, utilizamos testes não paramétricos equivalentes. A influência das características ambientais (temperaturas do ar e da água e umidade relativa do ar) sobre a densidade de machos foi verificada por meio do teste de correlação múltipla de Kendall (NALI & PRADO, 2012). Verificamos a influência da massa do corpo e do CRC dos machos sobre (1) a massa relativa dos testículos, (2) comprimento do espinho pré-polical (CEPP) e (3) largura e (4) comprimento do antebraço por meio de regressões lineares simples (ZAR, 1999). Estas análises foram realizadas apenas para as espécies *B. feioi* e *B. ibitipoca* devido ao N amostral.

Para as três espécies (*B. circumdata*, *B. feioi* e *B. ibitipoca*), as diferenças interespecíficas em massa relativa de testículos, CEPP relativo, largura e comprimento relativos do antebraço foram verificadas por análises de variância (ANOVA; ZAR, 1999). Para a comparação das densidades médias entre as espécies, utilizamos a função “wilcox.test” do pacote “stats” (R CORE TEAM, 2022) e aplicamos o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (ZAR, 1999).

Para testar a primeira hipótese, de haver uma correlação negativa (*trade-off*) entre características pré e pós-acasalamento, realizamos análises de regressão linear simples (ZAR, 1999) apenas para as espécies *B. feioi* e *B. ibitipoca*, devido ao tamanho da amostra.

Para testar a segunda hipótese (variação intraespecífica no investimento em características pré e pós-acasalamento em relação ao tamanho corpóreo), primeiramente, machos adultos de *Bokermannohyla feioi* e *B. ibitipoca* foram divididos em duas categorias de tamanho, tendo como ponto de corte a média da massa do corpo e do CRC (i.e., valor acima da média – macho grande; valor abaixo da média – macho pequeno). A seguir, análises de regressão linear foram feitas para verificar a influência da massa do corpo sobre a massa dos testículos, bem como a influência do CRC sobre (1) o CEPP, (2) o comprimento e (3) largura

do antebraço, separadamente para machos pequenos e grandes. Por último, análises de covariância (ANCOVA) foram realizadas para se testar se as inclinações das retas das regressões para machos pequenos e grandes eram significativamente diferentes (ZAR, 1999). Todas as análises foram feitas no software R (R CORE TEAM, 2022).

RESULTADOS

Características pré e pós-acasalamento e densidade de machos

Foram analisados um total de 57 machos (Tabela S1) de *Bokermannohyla*, sendo 30 de *B. feioi*, 23 de *B. ibitipoca* e 4 indivíduos de *B. circumdata*, representando a menor amostra entre as três espécies pela baixa densidade na área de estudo. Das espécies analisadas, machos de *B. circumdata* apresentaram o maior CRC ($\bar{x} = 61,48 \text{ mm} \pm 4,19$) em comparação às demais (*B. feioi*: $\bar{x} = 38,85 \text{ mm} \pm 1,45$; *B. ibitipoca*: $\bar{x} = 38,22 \text{ mm} \pm 1,76$), o que se manteve nas demais características examinadas (i.e., largura e comprimento do antebraço, CEPP, massa do corpo, massa dos testículos; Tabela 1). Machos de *B. circumdata* também apresentaram o maior tamanho relativo dos testículos ($\bar{x} = 2,39\%$), com investimento em massa testicular aproximadamente 4x superior ao das demais espécies. Os indivíduos analisados, bem como suas respectivas medidas podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1. Medidas das características (média $\pm$ SD) associadas às estratégias pré e pós-acasalamento em machos de *Bokermannohyla* do Parque Estadual do Ibitipoca, MG. CRC = comprimento rostro-cloacal; e CEPP = comprimento do espinho pré-polical.

Espécie	N	CRC (mm)	Largura antebraço (mm)	Comprimento antebraço (mm)	CEPP (mm)	Massa corpo (g)	Massa testículos (mg)	Testículo relativo (%)
<i>Bokermannohyla circumdata</i>	4	61,48 $\pm$ 4,19	7,27 $\pm$ 0,89	11,12 $\pm$ 1,29	6,49 $\pm$ 0,86	12,14 $\pm$ 2,58	280,65 $\pm$ 45,25	2,39 $\pm$ 0,61
<i>Bokermannohyla feioi</i>	30	38,85 $\pm$ 1,45	4,16 $\pm$ 0,39	7,04 $\pm$ 0,45	3,76 $\pm$ 0,22	2,90 $\pm$ 0,39	18,20 $\pm$ 5,78	0,63 $\pm$ 0,20
<i>Bokermannohyla ibitipoca</i>	23	38,22 $\pm$ 1,76	4,03 $\pm$ 0,43	6,88 $\pm$ 0,66	3,55 $\pm$ 0,30	2,85 $\pm$ 0,46	17,17 $\pm$ 8,34	0,59 $\pm$ 0,25

Foram amostrados quatro riachos (gruta: 21°42'43.46"S, 43°53'47.728"O; brejo: 21°42'41.613"S, 43°53'46.202"O; centro de pesquisa: 21°42'38.996"S, 43°53'48.874"O; casa

5: 21°42'51.548"S, 43°53'57.748"O) dentro dos limites do parque em um período de 20 noites, totalizando 242 machos vocalizando nos diferentes locais. A densidade de machos de *B. ibitipoca* (densidade = 0,02–0,48 machos/m², $\bar{x} = 0,12 \pm 0,09$) foi semelhante à densidade de machos de *B. feioi* (densidade = 0,02–0,29 machos/m², $\bar{x} = 0,11 \pm 0,08$; Tabela 2). Em relação a *B. circumdata*, observamos um único macho vocalizando durante todo o período de estudo, no mês de dezembro de 2023.

Tabela 2. Densidade (N/m² $\pm$ SD) de machos de *Bokermannohyla* no Parque Estadual do Ibitipoca, MG.

Espécies	N (nº machos)	Densidade de machos		
		média	mínima	máxima
<i>Bokermannohyla feioi</i>	92	0,11 $\pm$ 0,08	0,02	0,29
<i>Bokermannohyla ibitipoca</i>	151	0,12 $\pm$ 0,09	0,02	0,48

Encontramos que as densidades de *B. feioi* e *B. ibitipoca* não apresentaram diferenças significativas entre si ($W = 350,5$; $P = 0,84$; Fig. S1–2).

Ainda, verificamos a influência das variáveis ambientais (umidade (U), temperatura do ar (T) e temperatura da água (T_A)) sobre as densidades (D) dos machos. Para *B. feioi*, não encontramos correlação significativa entre a densidade e qualquer uma das variáveis ambientais (DxU: $\tau = -0,1094215$; DxT: $\tau = -0,05026186$; DxT_A: $\tau = -0,2042209$). Para *B. ibitipoca*, o resultado foi similar, visto que não encontramos relação entre a densidade e as características ambientais (DxU: $\tau = 0,10527296$; DxT: $\tau = -0,0213829$; DxT_A: $\tau = -0,003976214$). Os resultados das correlações entre as características ambientais e a densidade de machos podem ser conferidos na tabela suplementar 2.

Investimento pré e pós-acasalamento em espécies de *Bokermannohyla*

Bokermannohyla feioi

Quanto aos machos de *B. feioi*, não houve correlação significativa entre a massa corporal e a massa testicular, nem entre o CRC e a largura do antebraço (Figs. 3 e 5). Contudo, houve influência do CRC tanto sobre o comprimento do espinho pré-polical (CEPP)

($R^2 = 0,15$ e $P = 0,03$; Fig. 4) quanto sobre o comprimento do antebraço ($R^2 = 0,44$ e $P < 0,001$; Fig. 6), sendo observada uma correlação positiva significativa entre as variáveis em ambos os casos. Quando analisamos a relação entre a variável pós-acasalamento (massa dos testículos) e as pré-acasalamento (CEPP, largura e comprimento do antebraço relativos), não encontramos relação entre elas, isto é, não houve um *trade-off* entre as variáveis pré e pós-acasalamento para a espécie de *B. feioi* (Figs. 7–9). No entanto, pudemos observar uma tendência de crescimento positiva entre massa dos testículos e CEPP relativo ($P = 0,06$; Fig. 7), podendo significar que os machos estão investindo tanto em características pré quanto pós-acasalamento.

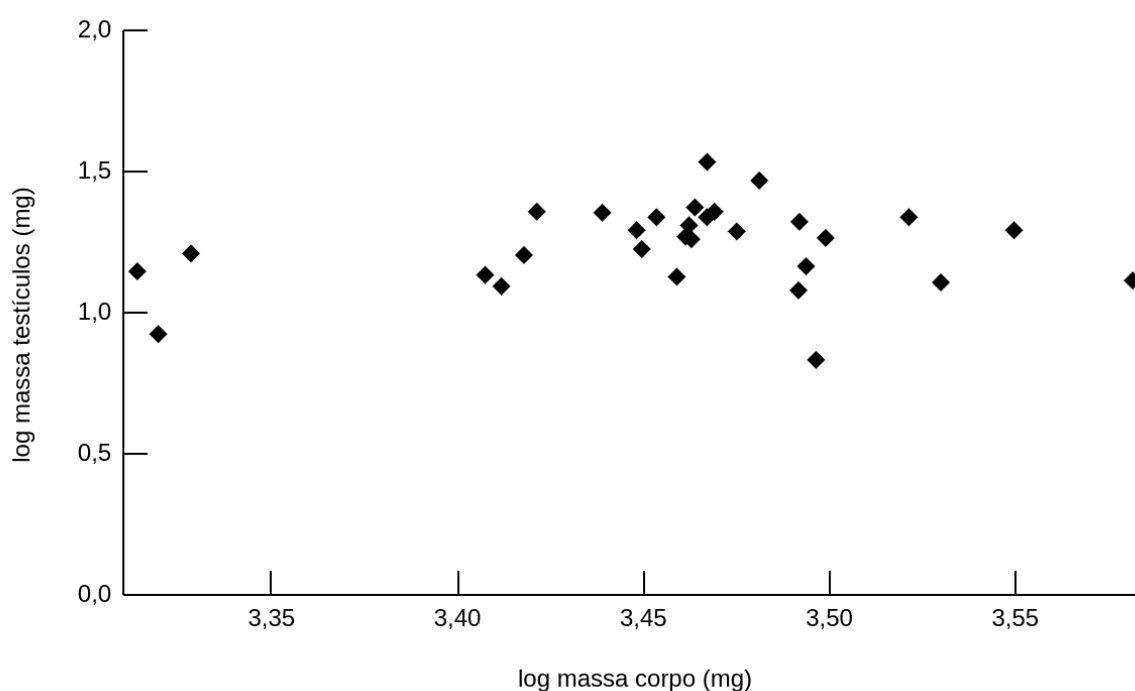


Figura 3. Relação entre a massa corporal e a massa testicular em *Bokermannohyla feioi* ($P = 0,35$).

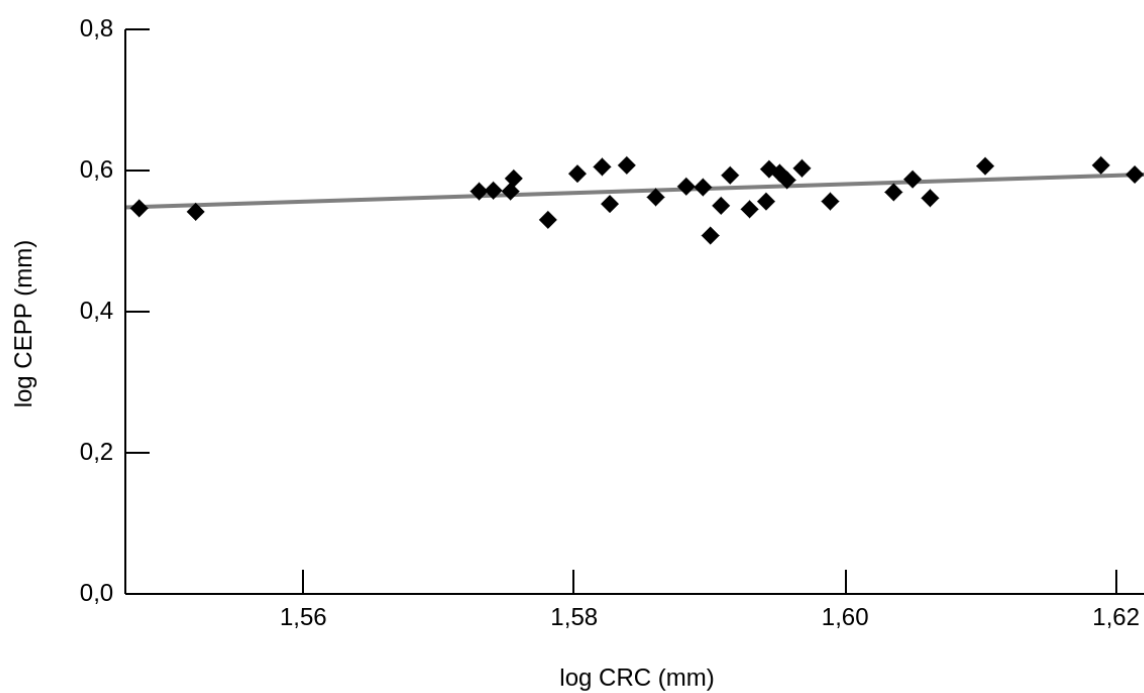


Figura 4. Relação entre o comprimento rostro-cloacal (CRC) e o CEPP em *Bokermannohyla feioi* ($\log y = 0,62 \log x - 0,41$; $R^2 = 0,15$; $P = 0,03$).

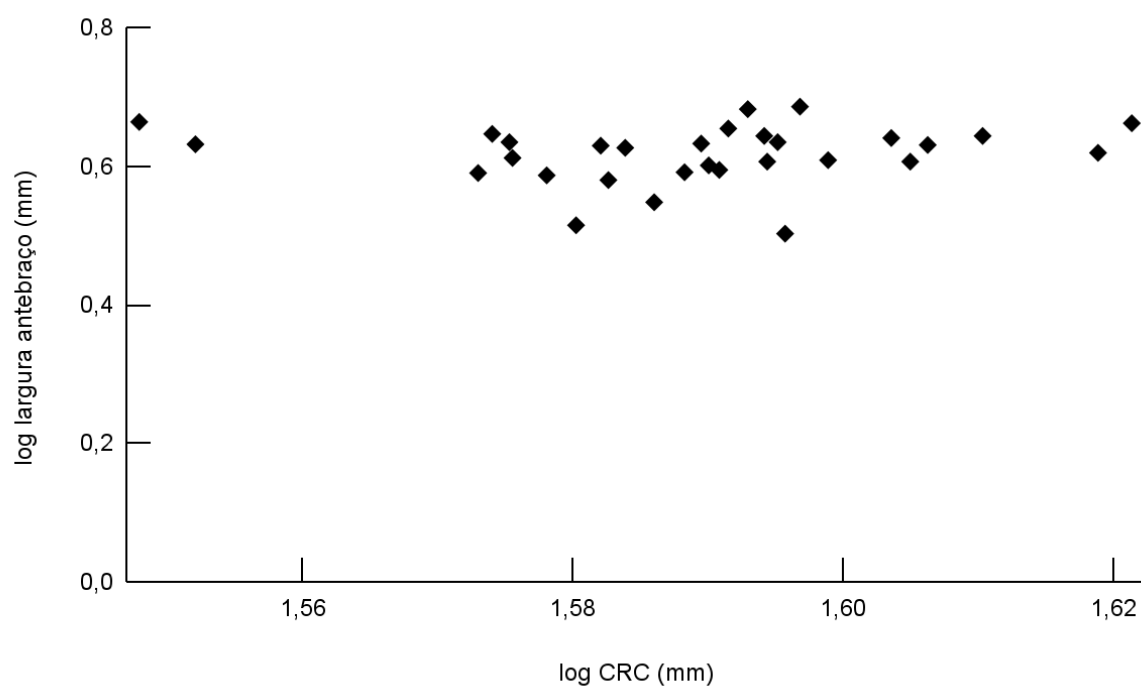


Figura 5. Relação entre o CRC e a largura do antebraço em *Bokermannohyla feioi* ($P = 0,68$).

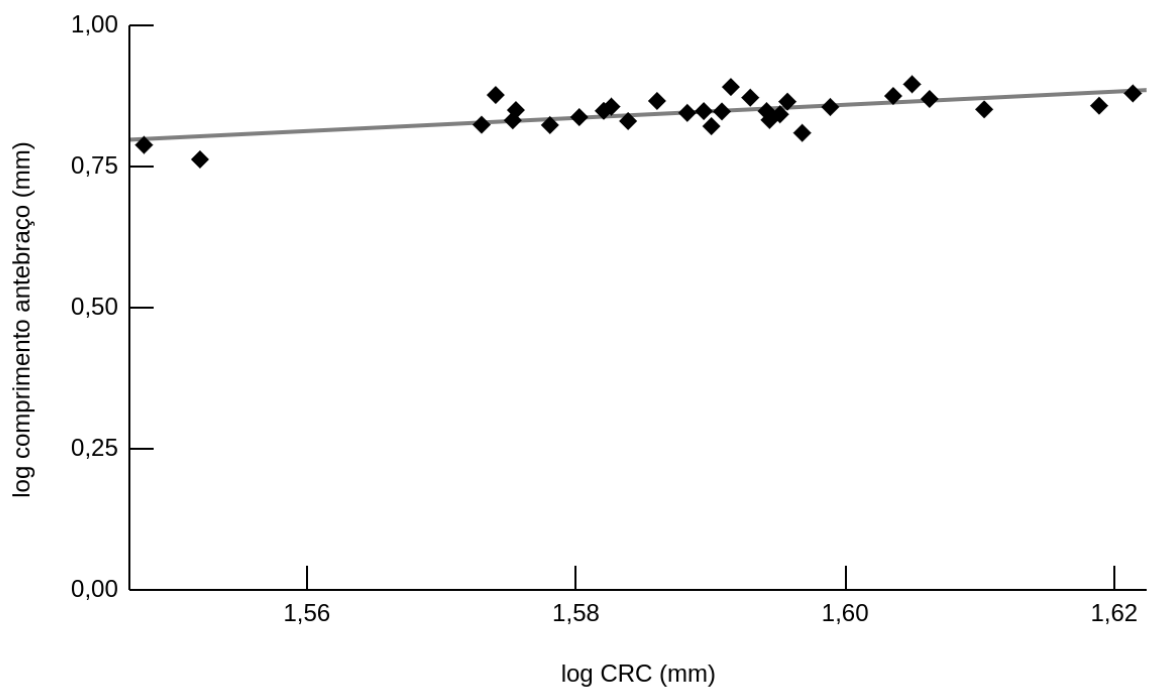


Figura 6. Relação entre o CRC e o comprimento do antebraço em *Bokermannohyla feioi* ($\log y = 1,16 \log x - 1$; $R^2 = 0,44$; $P < 0,001$).

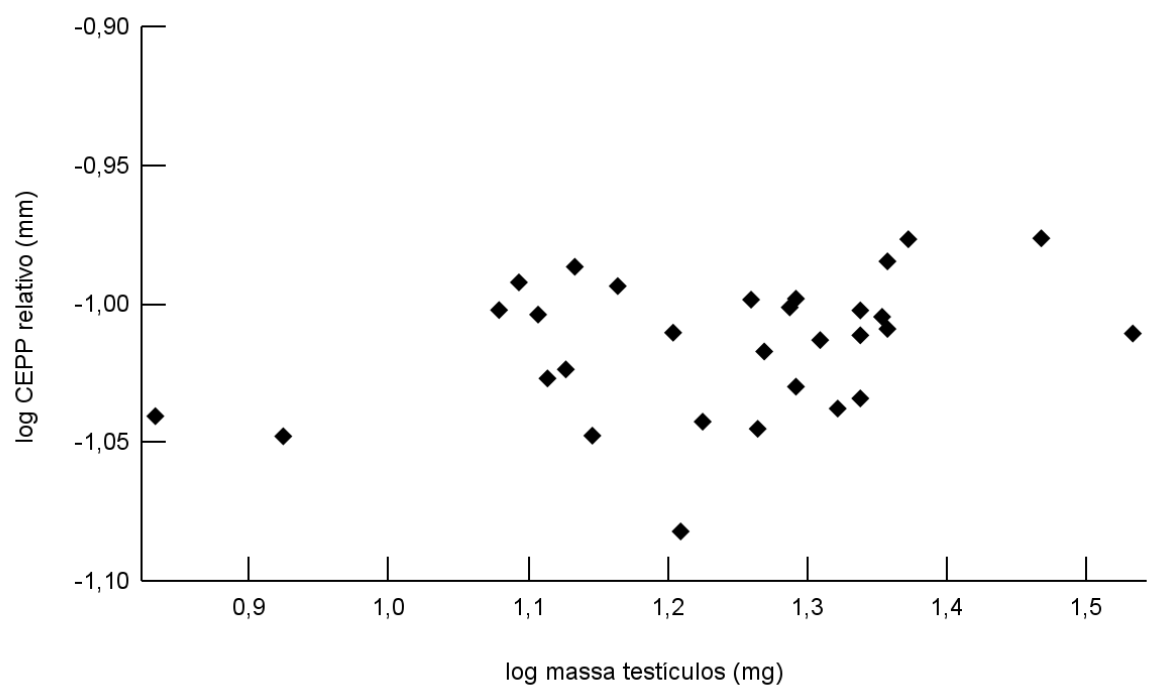


Figura 7. Relação entre a massa dos testículos e o CEPP relativo em *Bokermannohyla feioi* ($P = 0,06$).

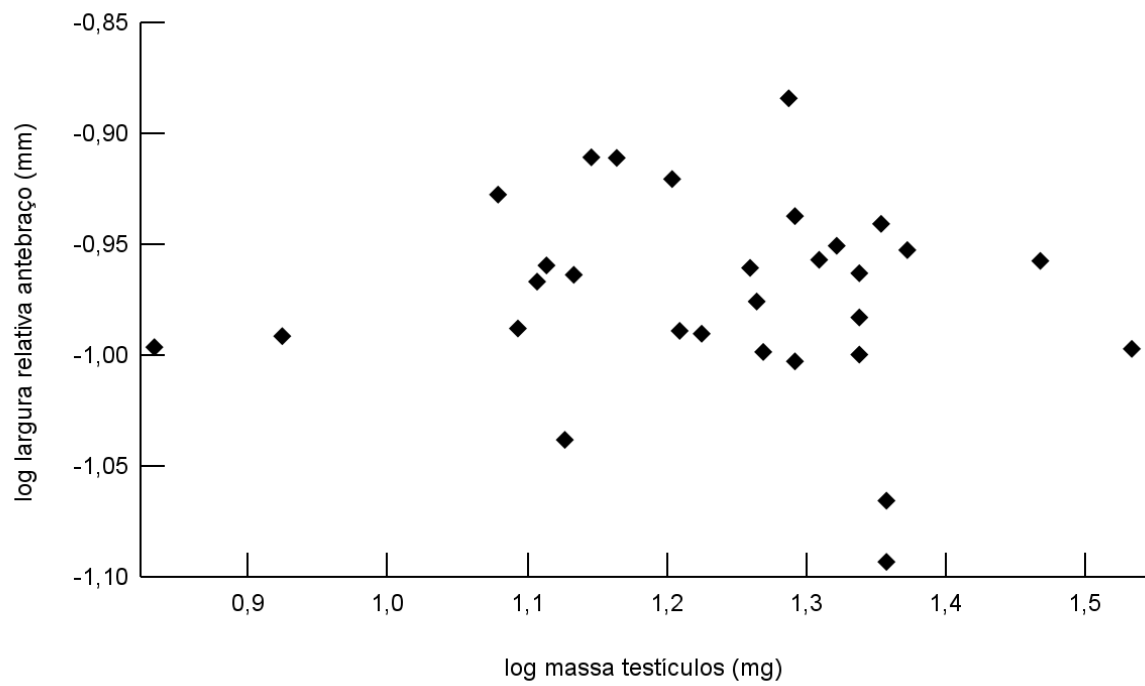


Figura 8. Relação entre a massa dos testículos e a largura relativa do antebraço em *Bokermannohyla feioi* ($P = 0,67$).

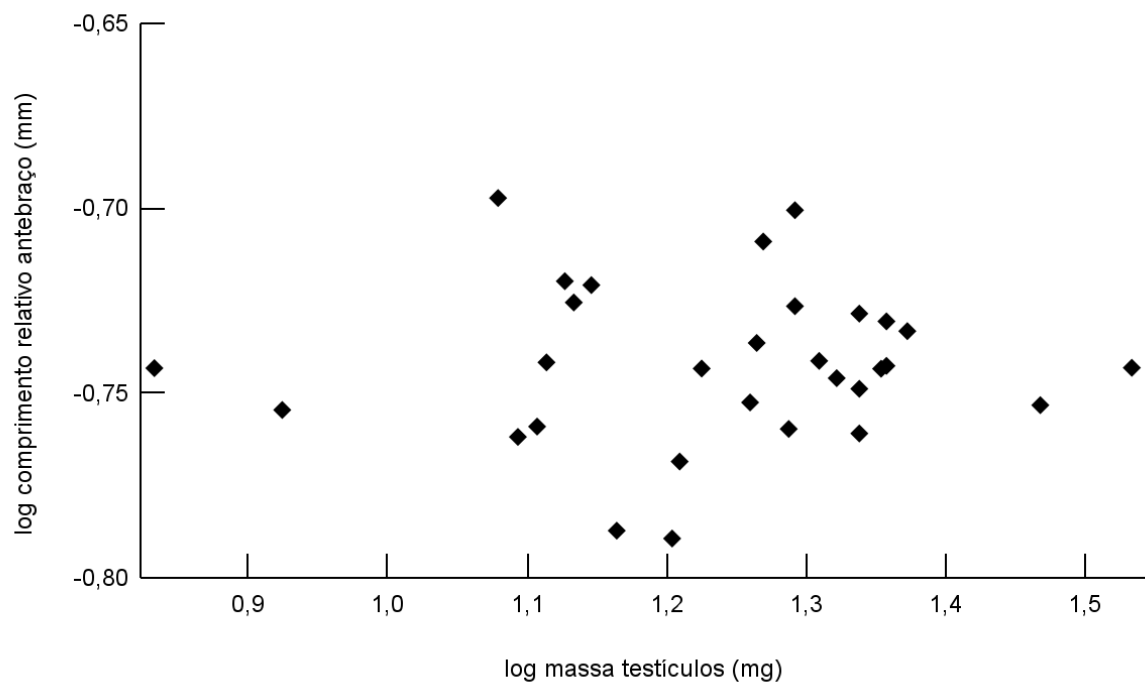


Figura 9. Relação entre a massa dos testículos e o comprimento relativo do antebraço em *Bokermannohyla feioi* ($P = 0,87$).

Bokermannohyla ibitipoca

Em relação à *B. ibitipoca*, encontramos uma correlação positiva entre a massa corporal e a massa testicular ($R^2 = 0,27$ e $P = 0,01$; Fig. 10), bem como entre o CRC e comprimento do antebraço ($R^2 = 0,31$ e $P < 0,01$; Fig. 13). Porém, não houve correlação entre CRC e CEPP (Fig. 11) e CRC e largura do antebraço (Fig. 12). De forma semelhante à *B. feioi*, não encontramos uma correlação negativa (*trade-off*) entre a variável pós-acasalamento (massa dos testículos) e as variáveis pré-acasalamento (largura e comprimento relativos do antebraço; Figs. 15–16). Ao contrário, houve uma correlação positiva significativa entre a massa dos testículos e o CEPP relativo ($R^2 = 0,21$; $P = 0,03$; Fig. 14).

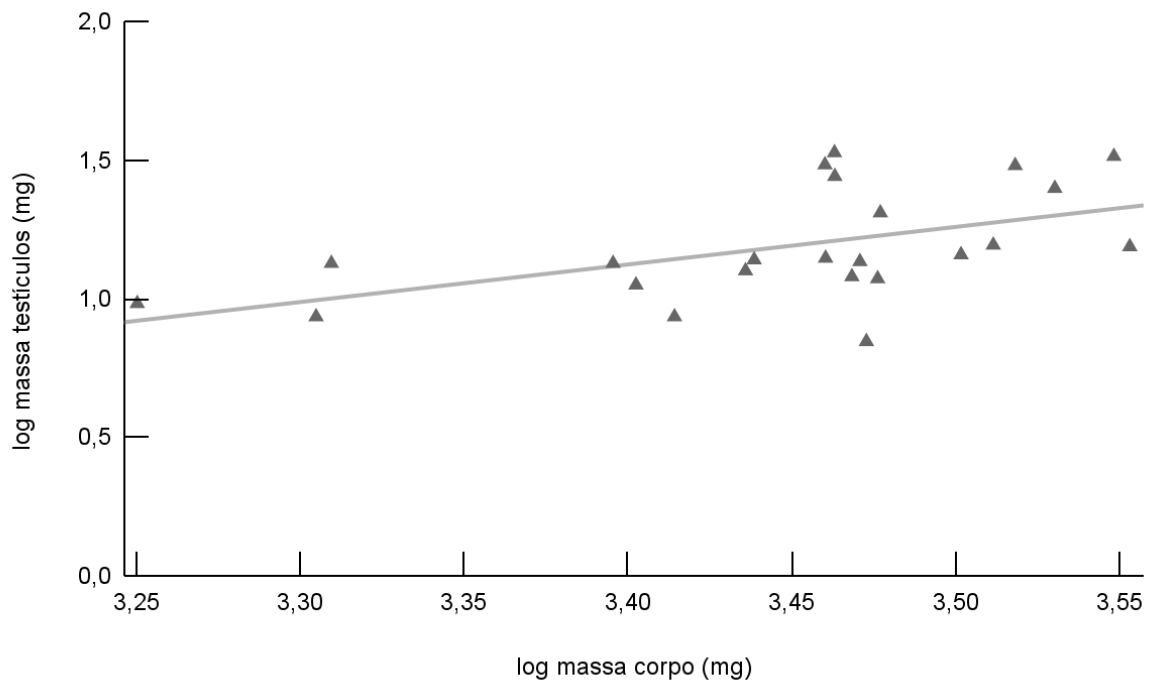


Figura 10. Relação entre as massas corporal e testicular em *Bokermannohyla ibitipoca* ($\log y = 1,36 \log x - 3,49$; $R^2 = 0,27$; $P = 0,01$).

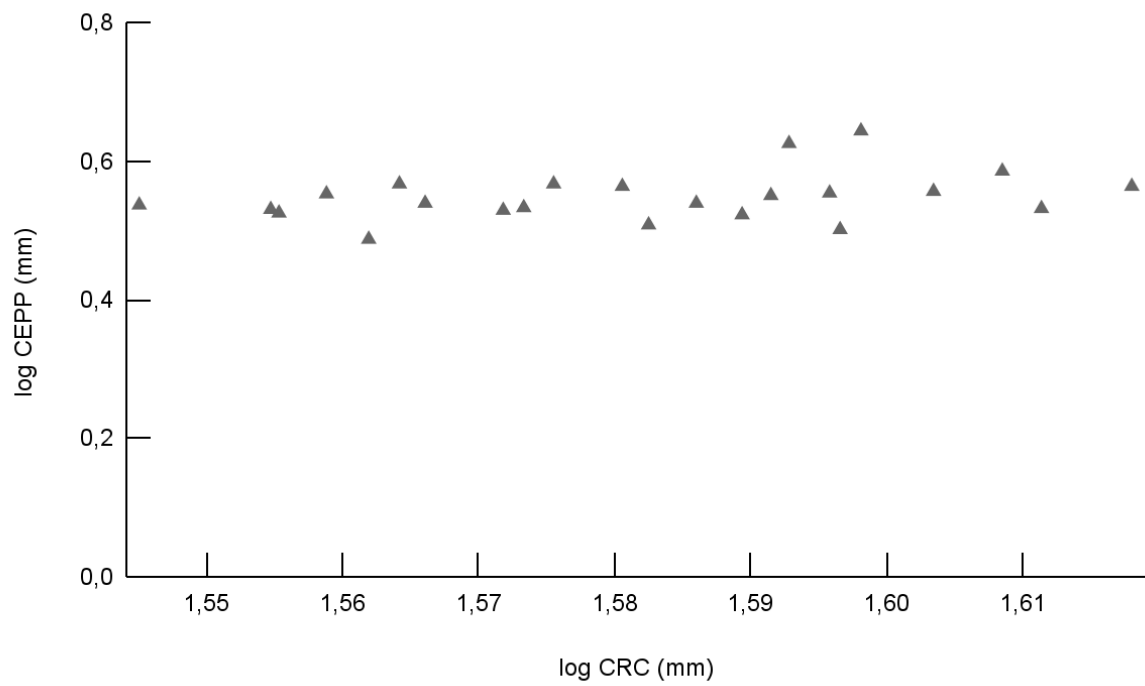


Figura 11. Relação entre o CRC e o CEPP em *Bokermannohyla ibitipoca* ($P = 0,11$).

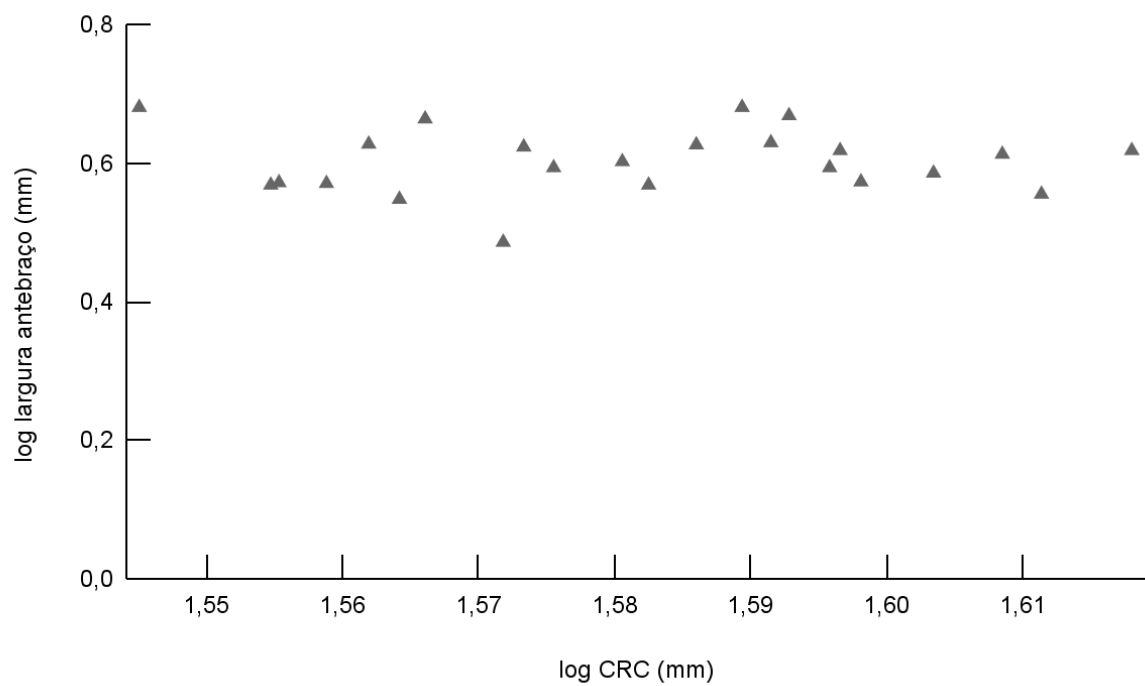


Figura 12. Relação entre o CRC e a largura do antebraço em *Bokermannohyla ibitipoca* ($P = 0,91$).

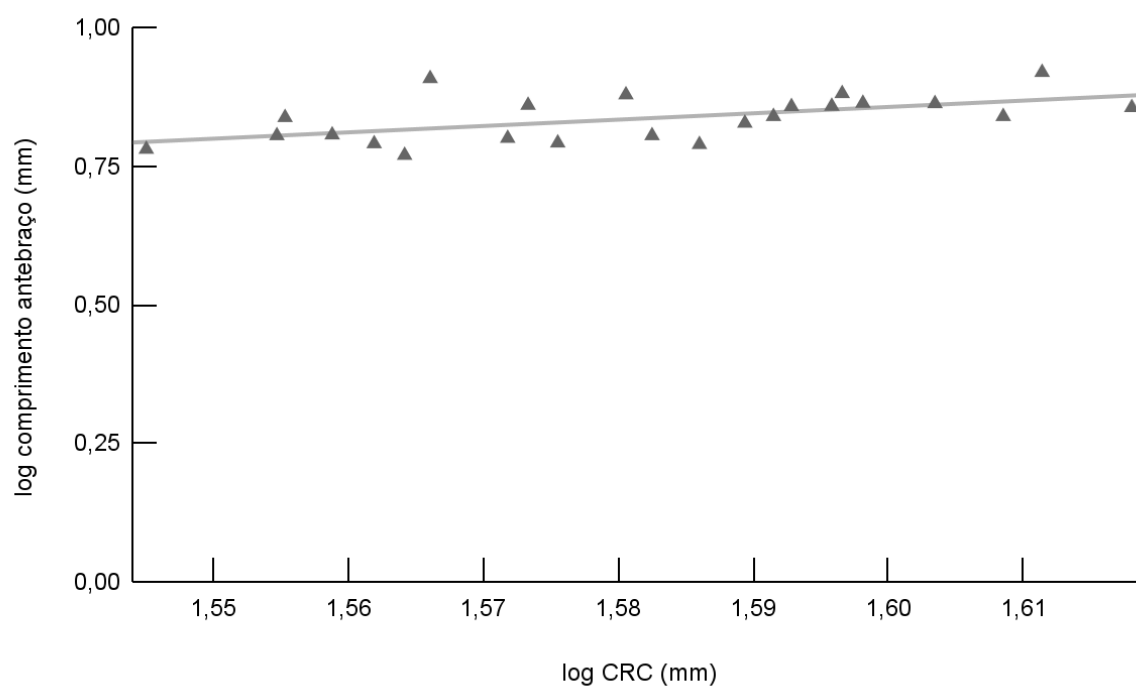


Figura 13. Relação entre o CRC e o comprimento do antebraço em *Bokermannohyla ibitipoca* ($\log y = 1,15 \log x - 0,98$; $R^2 = 0,31$; $P < 0,01$).

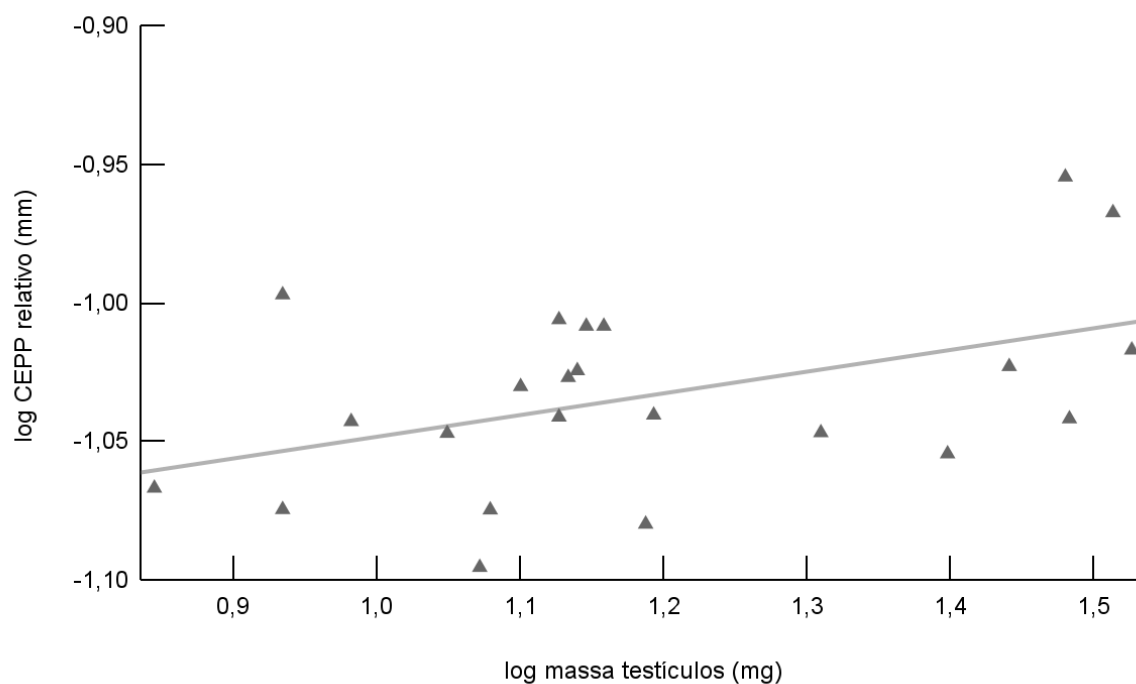


Figura 14. Relação entre a massa dos testículos e o CEPP relativo em *Bokermannohyla ibitipoca* ($\log y = 0,08 \log x - 1,13$; $R^2 = 0,21$; $P = 0,03$).

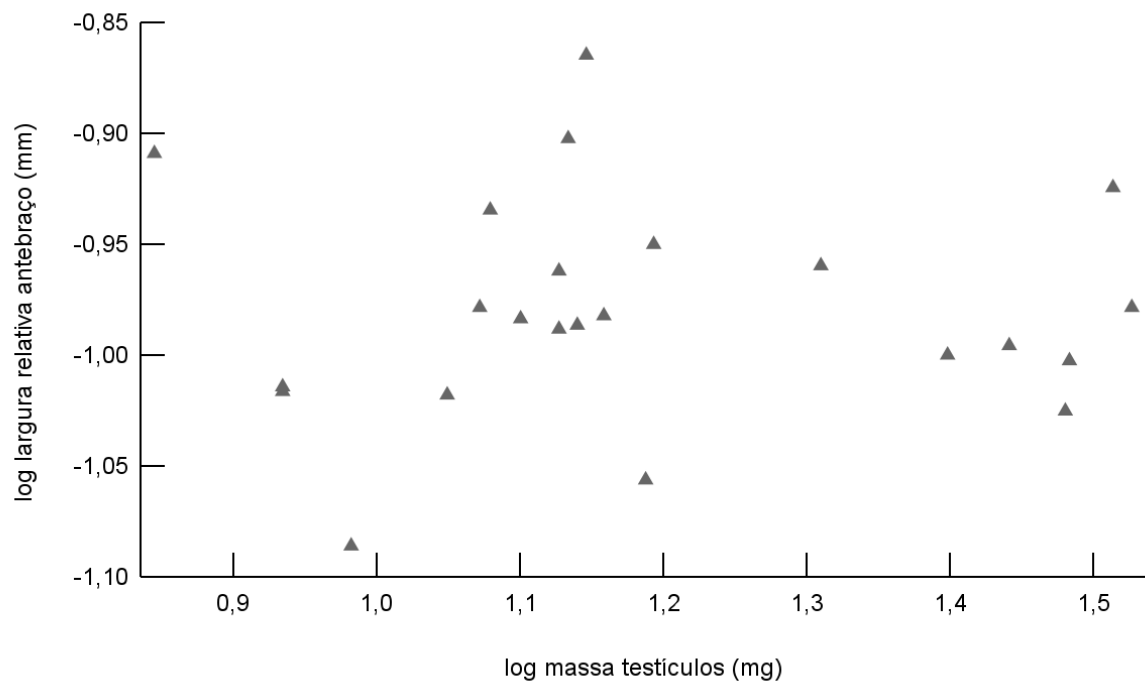


Figura 15. Relação entre a massa dos testículos e a largura relativa do antebraço em *Bokermannohyla ibitipoca* ($P = 0,99$).

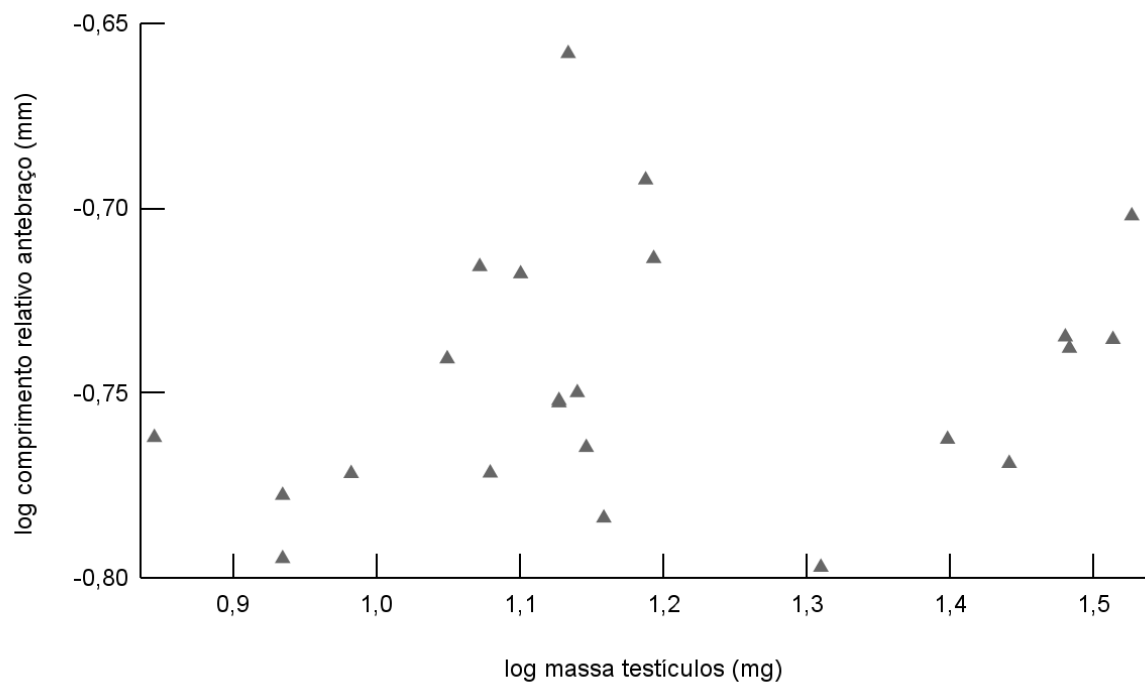


Figura 16. Relação entre a massa dos testículos e o comprimento relativo do antebraço em *Bokermannohyla ibitipoca* ($P = 0,30$).

Investimento pré e pós-acasalamento interespecífico

Quando comparamos as três espécies a partir de uma análise de variâncias (ANOVA), encontramos que as espécies investem diferencialmente em CEPP relativo ($F = 7,06$; $P < 0,002$; $gl = 2$) e massa testicular relativa ($F = 88,72$; $P < 0,001$; $gl = 2$), isto é, tanto em características pré quanto pós-acasalamento, sendo que os machos de *B. circumdata* investiram mais nessas características (Tabela 1). Encontramos que *B. feioi* apresentou CEPP relativo significativamente maior ($F = 4,85$; $P = 0,03$) em comparação à *B. ibitipoca* ($\bar{x} = 0,10 \pm 0,01$ e $\bar{x} = 0,09 \pm 0,01$, respectivamente). Contudo, quando comparamos a massa testicular relativa nessas duas espécies, não encontramos diferença significativa no investimento desse traço ($F = 0,43$; $P = 0,51$; $gl=1$), sendo seus investimentos médios similares ($\bar{x}_{B. feioi} = 0,63 \pm 0,20$ e $\bar{x}_{B. ibitipoca} = 0,59 \pm 0,25$).

Em relação às medidas de largura e comprimento relativos do antebraço, nas três espécies essas medidas não apresentaram diferenças significativas ($F = 2,09$; $P = 0,13$; $gl = 2$ e $F = 0,07$; $P = 0,94$; $gl = 2$; respectivamente).

Investimento pré e pós-acasalamento intraespecífico

Bokermannohyla feioi

Comparamos o investimento em características pré e pós-acasalamento entre machos pequenos ($CRC < 38,85$ mm; $N = 13$) e grandes ($CRC > 38,85$ mm; $N = 17$) de *B. feioi* por meio de análises de covariância (ANCOVA). Encontramos que machos maiores e menores apresentaram diferença significativa em relação ao investimento em massa testicular (traço pós-acasalamento) ($F = 4,45$; $P = 0,04$; $gl = 1$; Fig. 17). Machos menores tendem a apresentar um acentuado crescimento do investimento em testículos ($\log y = 2,21 \log x - 6,35$; $R^2 = 0,35$; $P = 0,03$), enquanto em machos grandes o investimento se estabiliza ($P = 0,92$). Com relação às características pré-acasalamento, não encontramos diferenças significativas nos investimentos entre machos pequenos e grandes em relação ao CEPP ($F = 0,14$; $P = 0,71$; $gl = 1$; Fig. 18) e o comprimento do antebraço ($F = 2,52$; $P = 0,13$; $gl = 1$; Fig. 20). Já para a largura do antebraço, a diferença foi marginalmente não significativa, com machos menores tendendo a um investimento negativo, relação que se inverteu a partir de um determinado tamanho dos machos ($F = 3,26$; $P = 0,08$; $gl = 1$; Fig. 19).

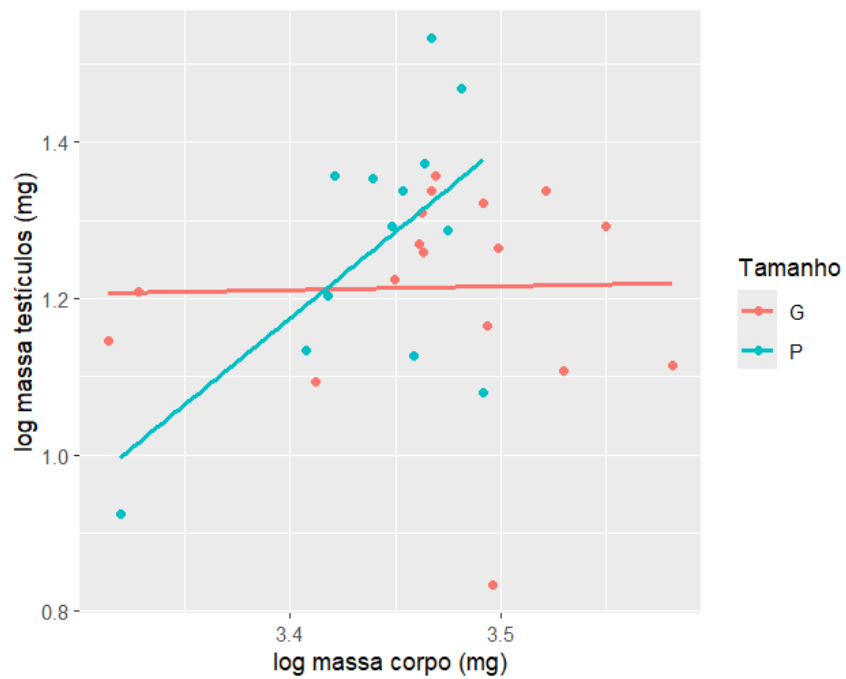


Figura 17. Relação entre as massas corporal e testicular para machos grandes (reta vermelha; $P = 0,92$) e pequenos (reta azul; $\log y = 2,21 \log x - 6,35$; $R^2 = 0,35$; $P = 0,03$) em *Bokermannohyla feioi*.

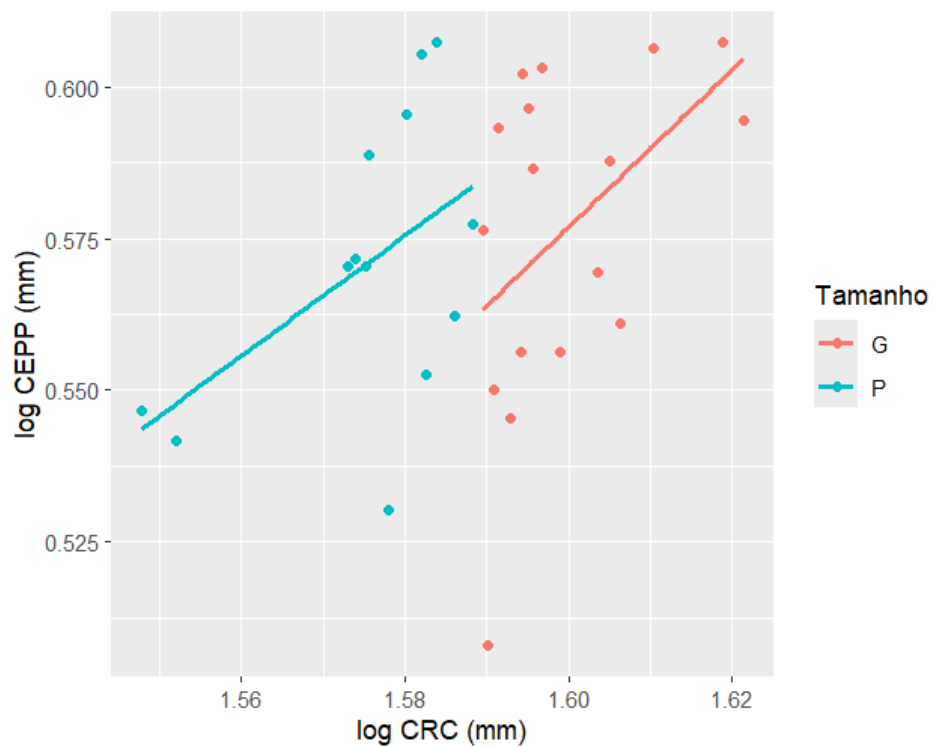


Figura 18. Relação entre o CRC e o CEPP para machos grandes (reta vermelha; $P = 0,06$) e pequenos (reta azul; $P = 0,08$) em *Bokermannohyla feioi*.

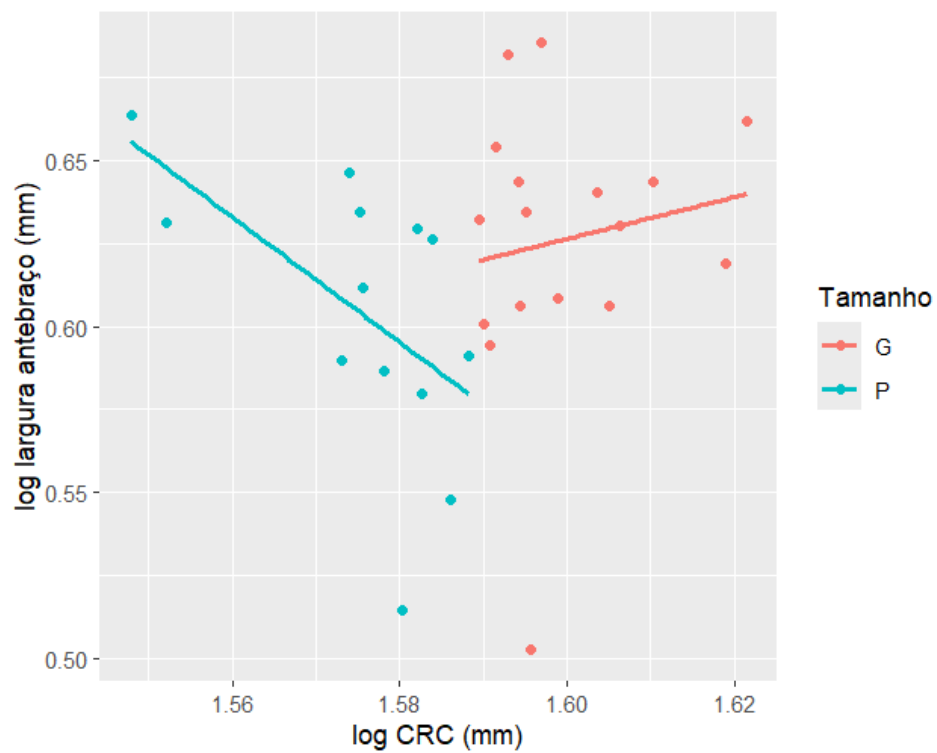


Figura 19. Relação entre o CRC e largura do antebraço para machos grandes (reta vermelha; $P = 0,57$) e pequenos (reta azul; $\log y = -1,88 \log x + 3,57$; $R^2 = 0,31$; $P < 0,05$) em *Bokermannohyla feioi*.

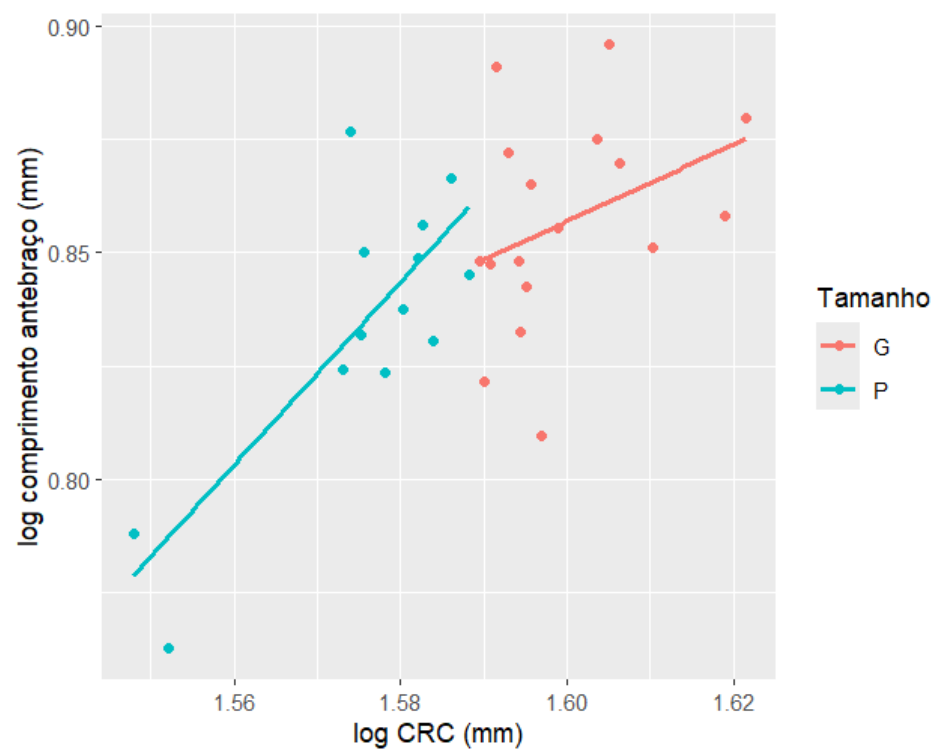


Figura 20. Relação entre o CRC e o comprimento do antebraço para machos grandes (reta vermelha; $P = 0,16$) e pequenos (reta azul; $\log y = 2,01 \log x - 2,34$; $R^2 = 0,64$; $P = 0,001$) em *Bokermannohyla feioi*.

Bokermannohyla ibitipoca

Para os machos pequenos (CRC < 38,22 mm; $N = 11$) e grandes (CRC > 38,22 mm; $N = 12$) de *B. ibitipoca*, não encontramos diferença significativa no investimento em características pré e pós-acasalamento: massa testicular ($F = 1,26$; $P = 0,28$; Fig. 21), CEPP ($F < 0,01$; $P = 0,94$; Fig. 22), largura do antebraço ($F = 0,03$; $P = 0,87$; Fig. 23), e comprimento do antebraço ($F = 0,06$; $P = 0,81$; Fig. 24). Diferentemente de *B. feioi*, machos grandes e pequenos de *B. ibitipoca* mostraram investimentos semelhantes nessas características. Chama a atenção a relação negativa entre CRC e largura do antebraço em machos grandes e pequenos (Fig. 23). Também, ainda que não significativa, observamos uma tendência para um maior investimento em testículos por parte de machos maiores (Fig. 21).

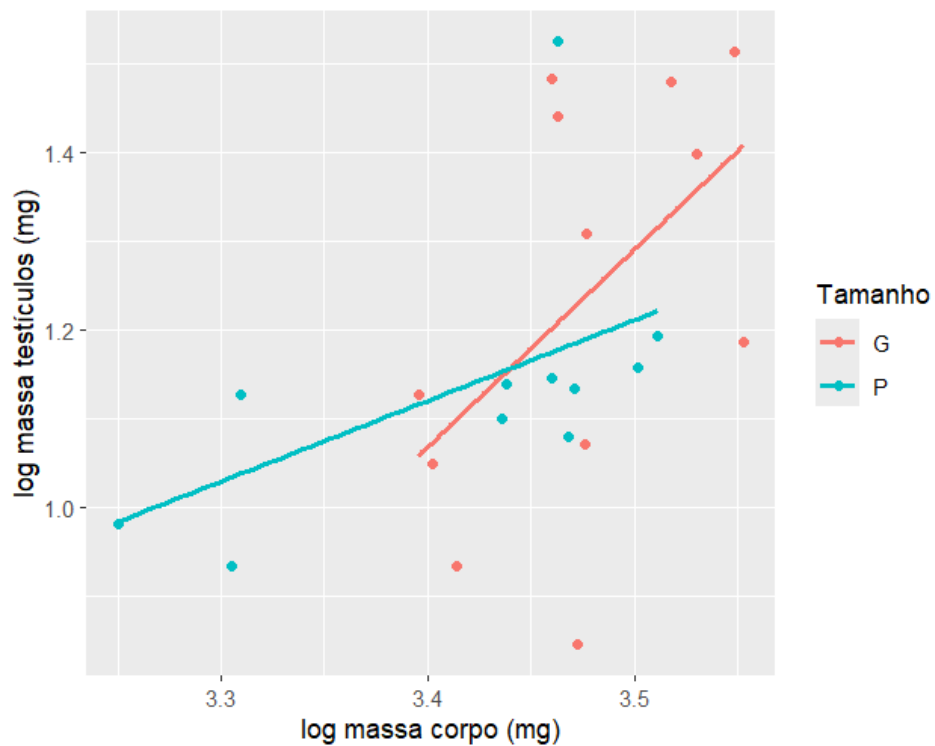


Figura 21. Relação entre as massas corporal e testicular para machos grandes (reta vermelha; $P = 0,08$) e pequenos (reta azul; $P = 0,09$) em *Bokermannohyla ibitipoca*.

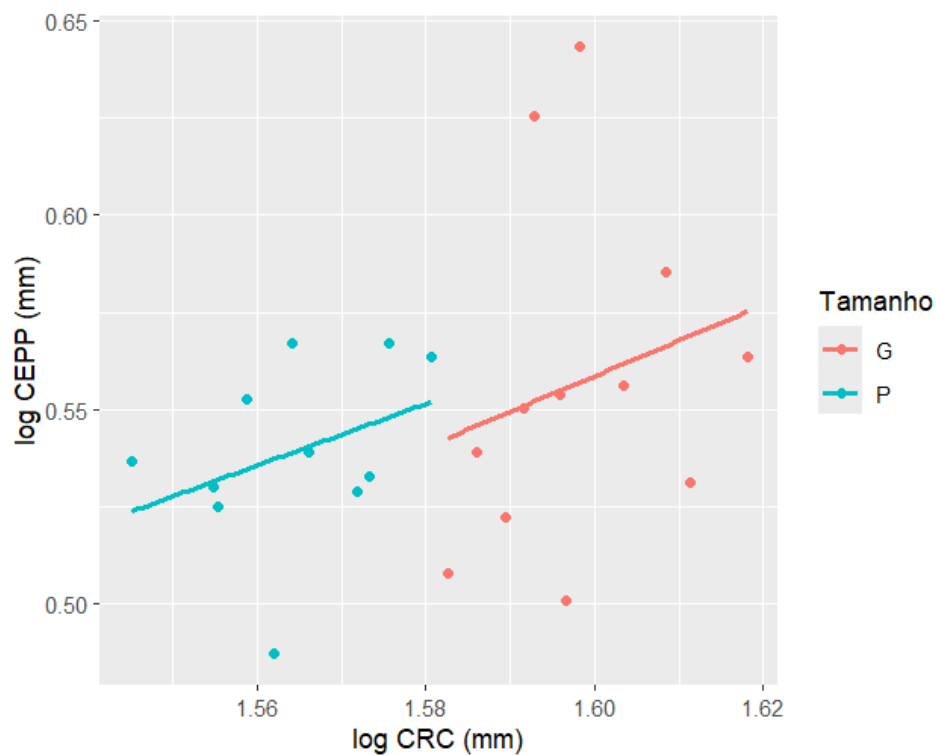


Figura 22. Relação entre o CRC e o CEPP para machos grandes (reta vermelha; $P = 0,48$) e pequenos (reta azul; $P = 0,28$) em *Bokermannohyla ibitipoca*.

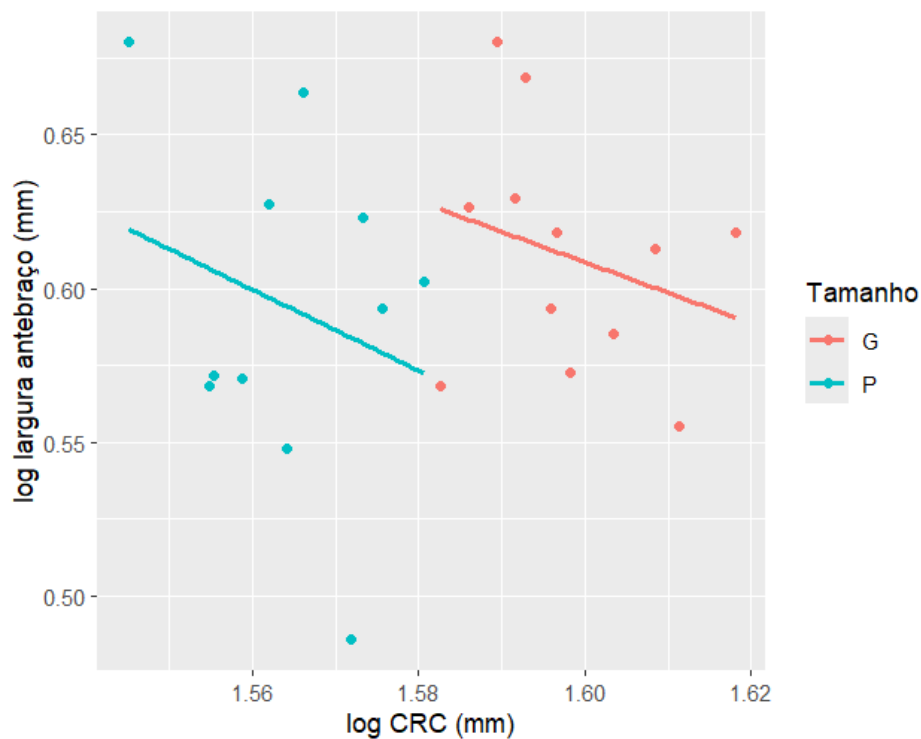


Figura 23. Relação entre o CRC e largura do antebraço para machos grandes (reta vermelha; $P = 0,39$) e pequenos (reta azul; $P = 0,45$) em *Bokermannohyla ibitipoca*.

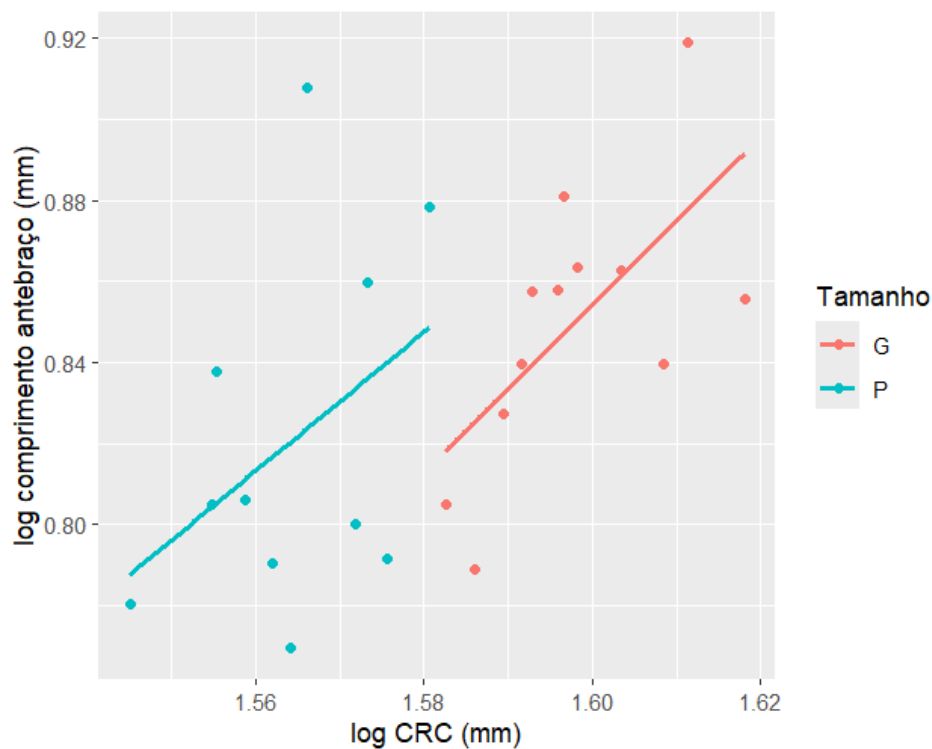


Figura 24. Relação entre o CRC e o comprimento do antebraço para machos grandes (reta vermelha; $\log y = 2,07 \log x - 2,45$; $R^2 = 0,42$; $P = 0,02$) e pequenos (reta azul; $P = 0,21$) em *Bokermannohyla ibitipoca*.

DISCUSSÃO

Considerando o número de machos das três espécies de *Bokermannohyla* em atividade de vocalização encontrados ao longo dos meses de campo (*B. feioi*: $N = 92$ e *B. ibitipoca*: $N = 151$), podemos dizer que as espécies *B. feioi* e *B. ibitipoca* apresentam reprodução prolongada (WELLS, 1977). Além disso, o distanciamento entre os machos vocalizadores (*B. feioi*: distância > 3 m; *B. ibitipoca*: distância > 5 m; F. Messias, obs. pess.) sugere a ocorrência de territorialidade, uma outra característica de reprodução prolongada (WELLS, 1977). Diferentemente, para *B. circumdata*, encontramos apenas um macho vocalizando, podendo sugerir um momento prévio ou posterior ao evento reprodutivo explosivo (ver discussão abaixo). Segundo Wells (1977), as espécies de reprodução explosiva somente apresentam densos agregados e alta densidade durante os períodos de acasalamento, que duram poucos dias. Esses eventos reprodutivos explosivos estão, muitas vezes, relacionados às condições climáticas, como precipitação e temperatura (WELLS, 1977). Apesar de não termos avaliado a precipitação, não encontramos correlação entre as características ambientais (temperaturas

do ar e da água e umidade relativa do ar) e a densidade dos machos vocalizadores, o que pode estar relacionado com a baixa variação desses fatores durante os meses de coleta na área de estudo.

Machos de *B. circumdata* investiram, em média, 2,39% da massa do corpo em testículos. Se compararmos com a média encontrada para vários anuros (PRADO & HADDAD, 2003), esse investimento pode ser considerado alto, indicando a ocorrência de poliandria. Apesar de não termos observado acasalamientos com vários machos nesta espécie, estudos têm mostrado que em espécies onde ocorrem acasalamientos poliândricos, expondo os machos à competição espermática, há um investimento maior em testículos como forma de aumentar o sucesso de fertilização (e.g., KUSANO *et al.*, 1991; PRADO & HADDAD, 2003; ZAMUDIO *et al.*, 2016). Ademais, a ocorrência de poliandria pode estar relacionada a eventos de reprodução explosiva, quando muitos machos se reúnem no ambiente reprodutivo (PRADO & HADDAD, 2003; ZAMUDIO *et al.*, 2016). Apesar de não termos observado nenhum evento de reprodução explosiva para *B. circumdata* na área de estudo, a espécie parece exibir esse padrão reprodutivo, mas que é pouco relatado na literatura (e.g., NOGUEIRA-COSTA *et al.*, 2016). Já para machos de *B. feioi* e *B. ibitipoca*, encontramos uma média na massa relativa de testículos próxima a 0,6%, o que poderia ser considerado como um baixo investimento quando comparado às espécies poliândricas de anuros (e.g., *Rhacophorus arboreus* = 5,15%, KUSANO *et al.*, 1991; *Leptodactylus macrosternum* = 4,13%, PRADO & HADDAD, 2003). Contudo, o investimento em testículos parece ser influenciado pela frequência com que acasalamientos poliândricos ocorrem na população, bem como pelo número de machos que participam da desova (JENNIONS & PASSMORE, 1993). Por exemplo, no Pantanal, machos de duas espécies poliândricas, *L. macrosternum* e *L. podicipinus*, possuem um investimento médio em massa testicular de 4,13% e 0,75%, respectivamente (PRADO & HADDAD, 2003). Enquanto *L. macrosternum* é uma espécie bastante explosiva, onde acasalamientos poliândricos devem ser mais frequentes e com a participação de mais machos, *L. podicipinus* tem reprodução prolongada, o que foi sugerido como explicação para as diferenças no investimento em testículos (PRADO & HADDAD, 2003). Além disso, quando analisamos o investimento testicular dentro do gênero *Bokermannohyla*, temos que *B. feioi* e *B. ibitipoca* apresentaram uma média superior a de machos de *B. ibitiguara* (0,29%; NALI & PRADO, 2012), espécie para a qual nunca foram observados acasalamientos poliândricos (R.C. Nali, com. pess.). Desta forma, assim como no caso dos *Leptodactylus* (PRADO & HADDAD, 2003) e de espécies de Rhacophoridae

(JENNIONS & PASSMORE, 1993), tanto o valor da massa relativa quanto à gradação em investimento testicular observada em *B. circumdata* (2,39%), *B. feioi* (0,63%) e *B. ibitipoca* (0,59%) sugerem que acasalamentos poliândricos possam ocorrer em frequências diferentes, o que precisa ser corroborado com mais estudos de campo.

Apesar de termos vários estudos evidenciando um *trade-off* entre características pré e pós-acasalamento (veja SIMMONS & EMLLEN, 2006; KVARNEMO & SIMMONS, 2013; DINES *et al.*, 2015; SIMMONS *et al.*, 2017; SOMJEE *et al.*, 2018; AGUIAR *et al.*, 2023), podemos dizer que tais relações ainda necessitam ser estudadas minuciosamente e considerando cada caso, visto que o tipo de seleção e o gasto energético, bem como a aptidão para o indivíduo podem influenciar nessas relações (PUNIAMOORTHY *et al.*, 2012; KVARNEMO & SIMMONS, 2013; LÜPOLD, *et al.*, 2015). Sendo assim, também podemos encontrar casos em que há uma correlação positiva entre as características pré e pós-acasalamento (veja BUZATTO *et al.*, 2015; 2017; LÜPOLD, *et al.*, 2015; SUPRIYA *et al.*, 2018a;b; este estudo), evidenciando que a relação entre tais características pode estar relacionada com o contexto evolutivo e/ou ecológico da espécie. É o caso do nosso estudo, onde encontramos uma correlação positiva no investimento em CEPP relativo e massa testicular para os machos de *B. ibitipoca* e uma tendência de correlação positiva entre os mesmos traços para *B. feioi* ($P = 0,06$), isto é, os machos dessas espécies parecem investir tanto em características pré quanto pós-acasalamento, assim como evidenciado em alguns outros estudos (SIMMONS & BUZATTO, 2014; BLENGINI *et al.*, 2016; SUPRIYA *et al.*, 2018a;b; PARKER, 2020). Podemos relacionar esse investimento com o risco de competição espermática dentro das espécies ou até mesmo a ocorrência de poliandria simultânea (e.g., PRADO & HADDAD, 2003; PRADO *et al.*, 2006; KVARNEMO & SIMMONS, 2013; ZAMUDIO *et al.*, 2016; LÜPOLD *et al.*, 2017), sugerindo que essas espécies estejam associadas com tais mecanismos. Isso pode estar relacionado tanto com a interação das fêmeas com os machos, local de desova, sítio de canto ou até mesmo disputas territoriais (PRADO & HADDAD, 2003; NALI & PRADO, 2012).

Ademais, quando observamos casos de investimento simultâneo dos machos em estratégias pré e pós-acasalamento, podemos pressupor um aumento em sua adaptação evolutiva em relação àqueles que não apresentam as mesmas características. Isso poderia torná-los parceiros sexuais de “melhor qualidade” para as fêmeas, favorecendo uma inversão na competição pelos parceiros, ou seja, uma tendência a uma maior competição sexual por parte das fêmeas (veja CRUMP, 1988; SUMMERS, 1989; KVARNEMO & SIMMONS,

2013; DE SÁ *et al.*, 2020). Para as espécies de *Bokermannohyla*, isso ainda não foi testado. No entanto, podemos formular hipóteses sobre o caso e, posteriormente, analisar se o mesmo fenômeno se aplica a essas espécies.

A partir da análise de covariância, para detectar diferenças em investimento em características pré e pós-acasalamento entre machos grandes e pequenos de *B. feioi*, pudemos constatar que machos menores investiram significativamente mais em massa testicular, enquanto em machos grandes o investimento foi estável (Fig. 17). Isso sugere uma estratégia alternativa na disputa por parceiras, visto que machos menores podem adotar comportamentos oportunistas para a obtenção de fêmeas, participando, por exemplo, de acasalamentos poliândricos (ZAMUDIO & CHAN, 2008). Para as demais características em *B. feioi*, mesmo que marginalmente significativa, machos grandes e pequenos exibiram diferenças no investimento em largura do antebraço. Observamos uma correlação negativa entre CRC e largura do antebraço para machos menores (Fig. 19) e uma tendência de correlação positiva para machos maiores, dando ainda mais indícios dessa diferença de estratégias dependendo do tamanho dos machos (ZAMUDIO & CHAN, 2008). Todos esses dados podem indicar uma tendência dessa diferença intraespecífica dos machos, mas devem ser mais bem testados.

Machos grandes e pequenos de *B. ibitipoca* mostraram investimentos similares em características pré e pós-acasalamento. Porém, pudemos observar uma tendência a um maior investimento em massa testicular em machos maiores (Fig. 21) do que menores, o que pode indicar o oposto ao estabelecido por Zamudio e Chan (2008). Porém, isso vai ao encontro da relação de isometria observada em baratas por Durrant e col. (2016), reforçando ainda mais a ideia de que tais mecanismos podem variar de acordo com contexto em que se encontra o táxon (PUNIAMOORTHY *et al.*, 2012; KVARNEMO & SIMMONS, 2013; LÜPOLD, *et al.*, 2015). Ainda, observamos que independentemente do tamanho do macho, o investimento em largura do antebraço foi negativo (Fig. 23), isto é, quanto maior o tamanho do macho, menor o investimento nessa característica, sugerindo que machos de *B. ibitipoca* possuem estratégias diferentes de *B. feioi*.

Por fim, pudemos observar uma diferença interessante na estratégia adotada tanto por *B. feioi* quanto por *B. ibitipoca*, de forma que diferentes tamanhos de machos apresentaram diferentes investimentos em características pós-acasalamento (maior tendência para machos menores em *B. feioi* e maior tendência para machos maiores em *B. ibitipoca*), sugerindo diferenças na ocorrência de poliandria em ambas as espécies, ou ainda, diferenças em seus

comportamentos agressivos. Estas e outras hipóteses devem ser testadas futuramente para um melhor entendimento sobre investimento em características reprodutivas em *Bokermannohyla*.

CONCLUSÕES

As espécies *B. feioi* e *B. ibitipoca* apresentam características de reprodução prolongada, visto seu padrão de distribuição e número de machos vocalizadores, enquanto *B. circumdata* parece apresentar reprodução explosiva. Em relação à densidade ou número de machos vocalizando, as características ambientais não tiveram uma influência significativa para nenhuma das espécies, podendo estar relacionado com a baixa variação dessas medidas no local e/ou período estudado. Machos das três espécies de *Bokermannohyla* possuem investimento em massa relativa dos testículos superior ao reportado para o gênero, podendo evidenciar uma maior pressão de seleção sexual e competição espermática para essas espécies do que para outras, ou alternativamente, podem estar relacionadas à história evolutiva dos grupos de *Bokermannohyla* (filogenia). Ao contrário do que esperávamos, machos de *B. ibitipoca* investiram tanto em características pré (CEPP relativo) quanto pós-acasalamento (massa testicular), tendência também observada para os machos de *B. feioi*. Podemos levantar hipóteses sobre a relação entre o investimento simultâneo em estratégias pré e pós-acasalamento por parte dos machos de *Bokermannohyla* e a inversão na competição sexual para as fêmeas, ou até mesmo no aumento do *fitness* dos indivíduos, porém, isso ainda necessita ser testado em estudos futuros. No entanto, corroborando nossa segunda hipótese, encontramos investimento diferencial em características pré e pós-acasalamento dependendo do tamanho dos machos. Como esperado, machos pequenos de *B. feioi* possuem investimento maior em testículos comparado à machos grandes, evidenciando as diferentes estratégias adotadas pelos machos menores para obtenção de fêmeas. Porém, as demais relações devem ser mais bem estudadas para verificar se tais efeitos variam de acordo com o contexto da espécie. Já para *B. ibitipoca*, machos maiores aparentam investir mais em testículos do que machos menores. Ainda, o investimento negativo em largura de antebraço independe do tamanho do macho, pressupondo diferenças no investimento dos diversos atributos. Por fim, *B. feioi* e *B. ibitipoca* possuem diferentes estratégias no investimento de características pré e pós-acasalamento, nos levando a levantar questões sobre a disparidade de ocorrência de mecanismos evolutivos e/ou comportamentais nessas espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, P.L.; LÜPOLD, S.; NALI, R.C. Relationships between vocalization characteristics and sperm traits in a neotropical treefrog. **Evolutionary Ecology**, v. 37, n. 5, p. 797-813, 2023.
- ALMG: Assembleia Legislativa de Minas Gerais. Lei nº 6.126, de 4 de julho de 1973. Cria os Parques Florestais de Ibitipoca e da Jaíba, nos municípios de Lima Duarte e Manga. Belo Horizonte, MG, 1973. Disponível em: <<https://www.almg.gov.br/legislacao-mineira/LEI/6126/1973/>>. Acesso em: 11 Maio 2023.
- BIRKHEAD, T. R. Sperm competition: evolutionary causes and consequences. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 7, n. 4, p. 755-775, 1995.
- BIRKHEAD, T. R.; MØLLER, A. P. (Ed.). **Sperm Competition and Sexual Selection**. Elsevier, 1998.
- BIRKHEAD, T. R.; PIZZARI, T. Postcopulatory sexual selection. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 4, p. 262-273, 2002.
- BLENGINI, C. S. et al. Relationship between pre-and post-copulatory traits in *Salvator rufescens* (Squamata: Teiidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 119, n. 4, p. 932-942, 2016.
- BRANDÃO, R. A. et al. A new species of *Bokermannohyla* (Anura: Hylidae) from highlands of Central Brazil. **Zootaxa**, v. 3527, n. 1, p. 28–42-28–42, 2012.
- BUZATTO, B. A.; ROBERTS, J. D.; SIMMONS, L. W. Sperm competition and the evolution of precopulatory weapons: increasing male density promotes sperm competition and reduces selection on arm strength in a chorusing frog. **Evolution**, v. 69, n. 10, p. 2613-2624, 2015.
- BUZATTO, B. A. et al. Sperm competition and the evolution of precopulatory weapons: testis size and amplexus position, but not arm strength, affect fertilization success in a chorusing frog. **Evolution**, v. 71, n. 2, p. 329-341, 2017.
- BYRNE, P. G.; ROBERTS, J. D.; SIMMONS, L. W. Sperm competition selects for increased testes mass in Australian frogs. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 15, n. 3, p. 347-355, 2002.
- CARVALHO, T. R. et al. A new species of the *Bokermannohyla circumdata* group (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil, with bioacoustic data on seven species of the genus. **Zootaxa**, v. 3321, n. 1, p. 37-55, 2012.

- CRUMP, M. L. Aggression in harlequin frogs: male-male competition and a possible conflict of interest between the sexes. **Animal Behaviour**, v. 36, n. 4, p. 1064-1077, 1988.
- CRUZ, C.A.G.; FEIO, R.N.; CARAMASCHI, U. **Anfibios do Ibitipoca**. Editora Bicho do Mato, Belo Horizonte, 2009.
- DARWIN, C. **The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex**. Murray, 1888.
- DAVIES, N.B.; KREBS, J.R.; WEST, S.A. An introduction to behavioural ecology. John Wiley & Sons, 2012.
- DE SÁ, F. P. et al. Unexpected reproductive fidelity in a polygynous frog. **Science Advances**, v. 6, n. 33, p. eaay1539, 2020.
- DE VASCONCELOS, E. G.; GIARETTA, A. A. A new species of *Hyla* (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil. **Revista Española de Herpetología**, n. 17, p. 21, 2003.
- DIAS, H. C. T. et al. Geoambientes do Parque Estadual do Ibitipoca, município de Lima Duarte-MG. **Revista Árvore**, v. 26, p. 777-786, 2002.
- DINES, J. P. et al. A trade-off between precopulatory and postcopulatory trait investment in male cetaceans. **Evolution**, v. 69, n. 6, p. 1560-1572, 2015.
- DURRANT, K. L. et al. Comparative morphological trade-offs between pre-and post-copulatory sexual selection in Giant hissing cockroaches (Tribe: Gromphadorhini). **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 36755, 2016.
- FAIVOVICH, J. et al. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylineae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 2005, n. 294, p. 1-240, 2005.
- FAIVOVICH, J. et al. A new species of the *Bokermannohyla martinsi* group from central Bahia, Brazil with comments on *Bokermannohyla* (Anura: Hylidae). **Herpetologica**, v. 65, n. 3, p. 303-310, 2009.
- FEIO, R. N. **Aspectos ecológicos dos anfíbios registrados no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais (Amphibia, Anura)**. Rio de Janeiro: UFRJ, 1990. 1065 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Zoologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1990.
- FIRMAN, R. C.; SIMMONS, L. W. The frequency of multiple paternity predicts variation in testes size among island populations of house mice. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 21, n. 6, p. 1524-1533, 2008.
- FROST, D. R. 2024. **Amphibian Species of the World: An Online Reference**. Version 6.1 (4 Mar 2024). Electronic Database accessible at

- <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001.
- GREENE, A. E.; FUNK, W. C. Sexual selection on morphology in an explosive breeding amphibian, the Columbia spotted frog (*Rana luteiventris*). **Journal of Herpetology**, v. 43, n. 2, p. 244-251, 2009.
- HADDAD, C. F. B.; PRADO, C. P. A. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 207-217, 2005.
- IEF-MG. **Parque Estadual do Ibitipoca**. 2023. Disponível em: <http://www.ief.mg.gov.br/component/content/192?task=view>. Acesso em: 11 Maio 2023.
- JENNIONS, M. D.; PASSMORE, N. I. Sperm competition in frogs: testis size and a 'sterile male' experiment on *Chiromantis xerampelina* (Rhacophoridae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 50, n. 3, p. 211-220, 1993.
- KUSANO, T.; TODA, M.; FUKUYAMA, K. Testes size and breeding systems in Japanese anurans with special reference to large testes in the treefrog, *Rhacophorus arboreus* (Amphibia: Rhacophoridae). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 29, p. 27-31, 1991.
- KVARNEMO, C.; SIMMONS, L. W. Polyandry as a mediator of sexual selection before and after mating. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 368, n. 1613, p. 20120042, 2013.
- LEITE, F. S. F.; PEZZUTI, T. L.; DRUMMOND, L. O. A new species of *Bokermannohyla* from the Espinhaço range, state of Minas Gerais, Southeastern Brazil. **Herpetologica**, v. 67, n. 4, p. 440-448, 2011.
- LEITE, F. S. F.; PEZZUTI, T. L.; GARCIA, P. C. A. A new species of the *Bokermannohyla pseudopseudis* group from the Espinhaço range, central Bahia, Brazil (Anura: Hylidae). **Herpetologica**, v. 68, n. 3, p. 401-409, 2012.
- LEMOS, A. B.; MELO-FRANCO, M. V. Situação atual dos Parques Florestais e Reservas Biológicas de Minas Gerais. **Fundação João Pinheiro**, v. 6, n. 4, p. 33-41, 1976.
- LINS, A. C. R. et al. The larvae of two species of *Bokermannohyla* (Anura, Hylidae, Cophomantini) endemic to the highlands of central Brazil. **Zootaxa**, v. 4527, n. 4, p. 501-520, 2018.
- LUGLI, L.; HADDAD, C. F. B. New species of *Bokermannohyla* (Anura, Hylidae) from Central Bahia, Brazil. **Journal of Herpetology**, v. 40, n. 1, p. 7-15, 2006a.

- LUGLI, L.; HADDAD, C. F. B. A new species of the *Bokermannohyla pseudopseudis* group from central Bahia, Brazil (Amphibia, Hylidae). **Herpetologica**, v. 62, n. 4, p. 453-465, 2006b.
- LÜPOLD, S. et al. No evidence for a trade-off between sperm length and male premating weaponry. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 28, n. 12, p. 2187-2195, 2015.
- LÜPOLD, S.; JIN, L.; LIAO, W. B. Population density and structure drive differential investment in pre-and postmating sexual traits in frogs. **Evolution**, v. 71, n. 6, p. 1686-1699, 2017.
- McDIARMID, R. W. Preparing amphibians as scientific specimens. In: **Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians**. W. R. Heyer, M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L. C. Hayek & M. S. Foster (Eds.). Smithsonian Institution, Washington, U.S.A., 1994.
- NALI, R. C.; PRADO, C. P. A. Habitat use, reproductive traits and social interactions in a stream-dweller treefrog endemic to the Brazilian Cerrado. **Amphibia-Reptilia**, v. 33, n. 3-4, p. 337-347, 2012.
- NAPOLI, M. F.; JUNCÁ, F. A. A new species of the *Bokermannohyla circumdata* group (Amphibia: Anura: Hylidae) from Chapada Diamantina, State of Bahia, Brazil. **Zootaxa**, v. 1244, p. 57-68, 2006.
- NAPOLI, M. F.; PIMENTA, B. V. S. A new species of the *Bokermannohyla circumdata* group (Anura: Hylidae) from the coastal forests of Bahia, Northeastern Brazil. **Copeia**, v. 2009, n. 4, p. 674-683, 2009.
- NOGUEIRA-COSTA, P. et al. Predation on egg clutch of *Bokermannohyla circumdata* (Anura: Hylidae) by the crab *Trichodactylus fluviatilis* (Crustacea: Trichodactylidae). **Herpetology Notes**, v. 9, p. 323-324, 2016.
- PARKER, G. A. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. **Biological Reviews**, v. 45, n. 4, p. 525-567, 1970.
- PARKER, G. A. Sperm competition games: raffles and roles. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 242, n. 1304, p. 120-126, 1990.
- PARKER, G. A. Sperm competition and the evolution of ejaculates: towards a theory base. **Sperm competition and sexual selection**, p. 3-54, 1998.
- PARKER, G. A. The evolution of expenditure on testes. **Journal of Zoology**, v. 298, n. 1, p. 3-19, 2016.

- PARKER, G. A. Conceptual developments in sperm competition: a very brief synopsis. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 375, n. 1813, p. 20200061, 2020.
- PINHEIRO, P. D. P. et al. Prepollex diversity and evolution in Cophomantini (Anura: Hylidae: Hylinae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 195, n. 3, p. 995-1021, 2022.
- PRADO, C. P. A.; HADDAD, C. F. B. Testes size in leptodactylid frogs and occurrence of multimale spawning in the genus *Leptodactylus* in Brazil. **Journal of Herpetology**, v. 37, n. 2, p. 354-362, 2003.
- PRADO, C. P. A. et al. *Phyllomedusa distincta* (leaf frog). Multimale spawning. **Herpetological Review**, v. 37, n. 2, p. 206-207, 2006.
- PRESTON, B. T. et al. Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1515, p. 633-640, 2003.
- PUNIAMOORTHY, N.; BLANCKENHORN, W. U.; SCHÄFER, M. A. Differential investment in pre-vs. post-copulatory sexual selection reinforces a cross-continental reversal of sexual size dimorphism in *Sepsis punctum* (Diptera: Sepsidae). **Journal of Evolutionary Biology**, v. 25, n. 11, p. 2253-2263, 2012.
- R CORE TEAM. 2022. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org>>. Acesso em: 3 Ago 2023.
- REIS, T. E; COSTA, V. C.; RIBEIRO, M. F. O uso do sistema de informação geográfica na identificação da susceptibilidade à erosão na zona de amortecimento de áreas protegidas brasileiras. **Territorium**, n. 22, p. 141-148, 2015.
- ROBERTS, J. D. et al. Synchronous polyandry and multiple paternity in the frog *Crinia georgiana* (Anura: Myobatrachidae). **Animal Behaviour**, v. 57, n. 3, p. 721-726, 1999.
- SIMMONS, L. W.; BUZATTO, B. A. Contrasting responses of pre-and post-copulatory traits to variation in mating competition. **Functional Ecology**, v. 28, n. 2, p. 494-499, 2014.
- SIMMONS, L. W.; EMLEN, D. J. Evolutionary trade-off between weapons and testes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 44, p. 16346-16351, 2006.

- SIMMONS, L. W.; LÜPOLD, S.; FITZPATRICK, J. L. Evolutionary trade-off between secondary sexual traits and ejaculates. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 32, n. 12, p. 964-976, 2017.
- SMITH, R. L. (Ed.). **Sperm competition and the evolution of animal mating systems**. Elsevier, 2012.
- SOMJEE, U.; ALLEN, P. E.; MILLER, C. W. Different environments lead to a reversal in the expression of weapons and testes in the heliconia bug, *Leptoscelis tricolor* (Hemiptera: Coreidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 115, n. 4, p. 802-809, 2015.
- SOMJEE, U. et al. Experimental manipulation reveals a trade-off between weapons and testes. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 31, n. 1, p. 57-65, 2018.
- SUMMERS, K. Sexual selection and intra-female competition in the green poison-dart frog, *Dendrobates auratus*. **Animal Behaviour**, v. 37, p. 797-805, 1989.
- SUPRIYA, K.; PRICE, T. D.; ROWE, M. Positive correlations between pre-and post-copulatory sexual traits in warblers. **Journal of Avian Biology**, v. 49, n. 5, p. jav-01694, 2018.
- SUPRIYA, K.; PRICE, T. D.; ROWE, M. Resource variation generates positive correlations between pre-and postcopulatory sexual traits. **Behavioral Ecology**, p. 1-7, 2018.
- WELLS, K. D. The social behaviour of anuran amphibians. **Animal Behaviour**, v. 25, p. 666-693, 1977.
- ZAMUDIO, K. R. et al. Polyandry, predation, and the evolution of frog reproductive modes. **The American Naturalist**, v. 188, n. S1, p. S41-S61, 2016.
- ZAMUDIO, K. R.; CHAN, L.M. Alternative reproductive tactics in amphibians. In: **Alternative Reproductive Tactics**. R. F. Oliveira, M. Taborsky & H. J. Brockmann (eds). Cambridge University Press, 2008.
- ZAR, J. **Biostatistical Analyses**. Prentice Hall, New Jersey, 1999.

Material suplementar

Tabela S1. Machos de *Bokermannohyla* analisados (n = 57). CRC = comprimento rostro-cloacal; L.ant = largura do antebraço; C.ant = comprimento do antebraço; CEPP = comprimento do espinho pré-polical; e MR = massa relativa dos testículos. ID = numeração de campo ou coleção científica. CAUFJF = Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Juiz de Fora.

ID	Sp.	Sexo	CRC (mm)	L.ant	C.ant (mm)	CEPP (mm)	Massa corpo (g)	Testículos (g)	MR (%)
RCN049	<i>B. circumdata</i>	M	59,71	6,55	9,47	6,34	9,8393	0,3014	3,06
RCN051	<i>B. circumdata</i>	M	66,84	8,50	12,37	7,47	15,4433	0,2500	1,62
RCN052	<i>B. circumdata</i>	M	62,38	7,37	11,89	6,75	12,9030	0,3342	2,59
EBO01	<i>B. feioi</i>	M	39,42	3,18	7,33	3,86	2,9453	0,0228	0,77
EBO02	<i>B. feioi</i>	M	38,55	3,53	7,35	3,65	2,8772	0,0134	0,47
EBO03	<i>B. feioi</i>	M	38,04	3,27	6,88	3,94	2,6385	0,0228	0,86
EBO04	<i>B. ibitipoca</i>	M	39,64	3,74	7,30	4,40	3,2971	0,0302	0,92
EBO05	<i>B. ibitipoca</i>	M	39,16	4,66	7,20	4,22	3,5338	0,0326	0,92
EBO06	<i>B. ibitipoca</i>	M	41,50	4,15	7,17	3,66	3,3902	0,0250	0,74
EBO07	<i>B. feioi</i>	M	38,75	3,90	7,00	3,78	2,9319	0,0342	1,17
EBO09	<i>B. feioi</i>	M	39,30	4,04	6,80	4,00	2,5812	0,0124	0,48
EBO10	<i>B. feioi</i>	M	40,14	4,37	7,50	3,71	2,9316	0,0218	0,74
EBO11	<i>B. feioi</i>	M	40,39	4,27	7,41	3,64	3,1551	0,0184	0,58
EBO12	<i>B. feioi</i>	M	38,36	4,23	6,77	4,05	3,0283	0,0294	0,97
EBO13	<i>B. feioi</i>	M	37,61	4,31	6,79	3,72	2,7476	0,0226	0,82
EBO14	<i>B. feioi</i>	M	41,82	4,59	7,58	3,93	3,8161	0,0130	0,34
EBO15	<i>B. feioi</i>	M	40,77	4,40	7,10	4,04	3,3885	0,0128	0,38
EBO16	<i>B. feioi</i>	M	39,37	4,31	6,96	3,95	2,9034	0,0182	0,63
EBO17	<i>B. ibitipoca</i>	M	38,07	4,00	7,56	3,66	2,9041	0,0336	1,16
EBO18	<i>B. feioi</i>	M	38,86	4,29	7,05	3,77	2,8992	0,0204	0,70
EBO19	<i>B. feioi</i>	M	40,27	4,04	7,87	3,87	2,8930	0,0186	0,64
EBO20	<i>B. ibitipoca</i>	M	39,43	3,92	7,21	3,58	2,8847	0,0304	1,05
EBO21	<i>B. feioi</i>	M	38,20	4,26	7,06	4,03	2,9097	0,0236	0,81

EBO22	<i>B. feioi</i>	M	39,71	4,06	7,17	3,60	2,8156	0,0168	0,60
EBO23	<i>B. feioi</i>	M	38,25	3,80	7,18	3,57	2,8067	0,0196	0,70
EBO24	<i>B. feioi</i>	M	39,28	4,40	7,05	3,60	3,1043	0,0210	0,68
EBO25	<i>B. feioi</i>	M	41,58	4,16	7,21	4,05	3,3220	0,0218	0,66
EBO28	<i>B. ibitipoca</i>	M	40,87	3,59	8,30	3,40	3,5735	0,0154	0,43
EBO29	<i>B. circumdata</i>	M	57,00	6,67	10,76	5,40	10,3626	0,2370	2,29
CAUFJF2369	<i>B. feioi</i>	M	38,91	3,99	6,63	3,22	2,1299	0,0162	0,76
CAUFJF2370	<i>B. feioi</i>	M	37,85	3,86	6,66	3,39	2,0872	0,0084	0,40
CAUFJF2371	<i>B. feioi</i>	M	39,17	4,81	7,45	3,51	2,0602	0,0140	0,68
CAUFJF2372	<i>B. feioi</i>	M	37,41	3,89	6,67	3,72	2,8414	0,0218	0,77
CAUFJF2373	<i>B. feioi</i>	M	38,98	3,93	7,04	3,55	3,1365	0,0068	0,22
CAUFJF2374	<i>B. feioi</i>	M	37,63	4,09	7,08	3,88	2,5555	0,0136	0,53
CAUFJF2375	<i>B. feioi</i>	M	39,52	4,85	6,45	4,01	3,1171	0,0146	0,47
CAUFJF2376	<i>B. feioi</i>	M	35,65	4,28	5,79	3,48	2,6175	0,0160	0,61
CAUFJF2377	<i>B. feioi</i>	M	35,31	4,61	6,14	3,52	2,9862	0,0194	0,65
CAUFJF2378	<i>B. feioi</i>	M	39,04	4,51	7,78	3,92	3,5455	0,0196	0,55
CAUFJF2379	<i>B. feioi</i>	M	37,50	4,43	7,53	3,73	3,1026	0,0120	0,39
CAUFJF2351	<i>B. ibitipoca</i>	M	36,21	3,72	6,40	3,57	2,0397	0,0134	0,66
CAUFJF2352	<i>B. ibitipoca</i>	M	36,66	3,53	5,88	3,69	2,0179	0,0086	0,43
CAUFJF2353	<i>B. ibitipoca</i>	M	40,13	3,85	7,29	3,60	2,5262	0,0112	0,44
CAUFJF2354	<i>B. ibitipoca</i>	M	37,31	3,06	6,31	3,38	1,7797	0,0096	0,54
CAUFJF2355	<i>B. ibitipoca</i>	M	40,60	4,10	6,91	3,85	2,9048	0,0276	0,95
CAUFJF2356	<i>B. ibitipoca</i>	M	38,24	3,70	6,38	3,22	2,5955	0,0086	0,33
CAUFJF2357	<i>B. ibitipoca</i>	M	38,85	4,79	6,72	3,33	2,9700	0,0070	0,24
CAUFJF2358	<i>B. ibitipoca</i>	M	36,82	4,61	8,09	3,46	2,9565	0,0136	0,46
CAUFJF2359	<i>B. ibitipoca</i>	M	37,63	3,92	6,19	3,69	3,1741	0,0144	0,45
CAUFJF2361	<i>B. ibitipoca</i>	M	35,08	4,79	6,03	3,44	2,8860	0,0140	0,49
CAUFJF2362	<i>B. ibitipoca</i>	M	35,92	3,73	6,88	3,35	2,7282	0,0126	0,46
CAUFJF2363	<i>B. ibitipoca</i>	M	39,50	4,15	7,60	3,17	2,9935	0,0118	0,39
CAUFJF2364	<i>B. ibitipoca</i>	M	35,87	3,70	6,38	3,39	2,7449	0,0138	0,50
CAUFJF2365	<i>B. ibitipoca</i>	M	39,04	4,26	6,91	3,55	2,4859	0,0134	0,54
CAUFJF2366	<i>B. ibitipoca</i>	M	38,55	4,23	6,15	3,46	2,9992	0,0204	0,68
CAUFJF2367	<i>B. ibitipoca</i>	M	36,47	4,24	6,17	3,07	2,9399	0,0120	0,41

CAUFJF2368	<i>B. ibitipoca</i>	M	37,44	4,20	7,24	3,41	3,2468	0,0156	0,48
------------	---------------------	---	-------	------	------	------	--------	--------	------

Tabela S2. Resultado do teste de correlação de Kendall (τ) entre as densidades e as características ambientais para *B. feioi* e *B. ibitipoca*. U = umidade; T = temperatura; T_A = temperatura da água; e D = densidade.

Teste de correlação de Kendall (τ)				
<i>Bokermannohyla feioi</i>	U	T	T _A	D
U	1	-0,17142899	0,1562749	-0,10942148
T	-0,17142900	1	0,5727772	-0,05026186
T _A	0,1562749	0,57277717	1	-0,20422086
D	-0,1094215	-0,05026186	-0,2042209	1
<i>Bokermannohyla ibitipoca</i>	U	T	T _A	D
U	1	-0,18025	-0,039223227	0,105272959
T	-0,18025003	1	0,596436197	-0,021382899
T _A	-0,03922323	0,5964362	1	-0,003976214
D	0,10527296	-0,0213829	-0,003976214	1

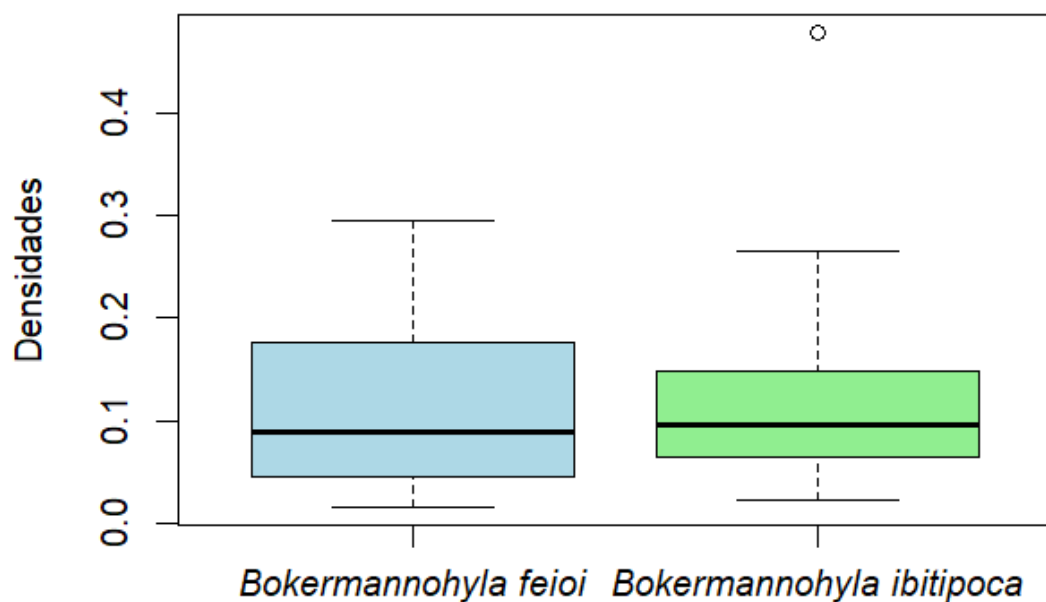


Figura S1. Boxplot do teste de Wilcoxon-Mann-Whitney comparando as densidades de *B. feioi* e *B. ibitipoca* ($W = 350,5$; $P = 0,84$).

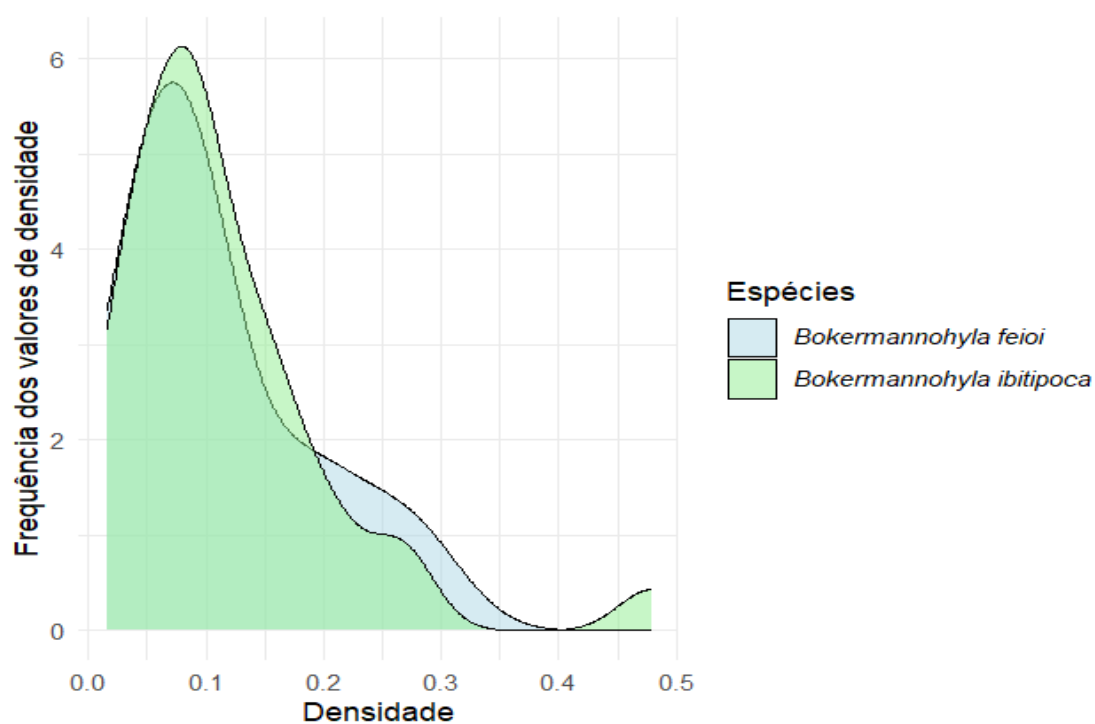


Figura S2. Distribuição das densidades de *B. feioi* e *B. ibitipoca*.