



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E
CONSERVAÇÃO



**HISTÓRIA NATURAL, ESFORÇO REPRODUTIVO E RELAÇÕES DE TAMANHO-
FECUNDIDADE EM *LEPTODACTYLUS BUFONIUS* (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) NO
CHACO, MATO GROSSO DO SUL, BRASIL**

Gabriel Paganini Faggioni

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

**CAMPO GRANDE, MS
JANEIRO, 2011**

**HISTÓRIA NATURAL, ESFORÇO REPRODUTIVO E RELAÇÕES DE TAMANHO-
FECUNDIDADE EM *LEPTODACTYLUS BUFONIUS* (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) NO
CHACO, MATO GROSSO DO SUL, BRASIL**

Gabriel Paganini Faggioni

ORIENTADORA: CYNTHIA PERALTA DE ALMEIDA PRADO

BANCA EXAMINADORA:

CYNTHIA AGUIRRE BRASILEIRO

DOMINGOS DE JESUS RODRIGUES

FRANCO LEANDRO DE SOUZA

JOSÉ PEREZ POMBAL JÚNIOR

ROGÉRIO PEREIRA BASTOS

CAMPO GRANDE, MS

JANEIRO, 2011

*Dedico este trabalho à Ágata,
Frederico, Nina, Zappa, Zucker
e Trica.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, docentes e demais funcionários por todos os ensinamentos, apoio logístico e pessoal durante esses últimos dois anos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pela bolsa de mestrado.

À orientadora Cynthia Prado, por ter me guiado e ensinado tanto durante os últimos três anos. Pelas portas abertas e pela confiança que tanto me incentivaram neste mestrado.

Aos professores Franco Leandro de Souza e Masao Uetanabaro, por me apresentarem ao Chaco e por toda ajuda durante a execução do projeto.

Ao Oswaldo Avelar (Seu Bala), por abrir a porteira de sua fazenda para que este trabalho fosse realizado. Ao Seu Alberto e Dona Paula, por me receberem tão bem em sua casa e por servirem de exemplo de caráter e amor.

Aos colegas de turma pela troca de conhecimento e incentivo a todo o momento.

Aos outros moradores, pseudo-moradores e anexos da República Quintal pelos infinitos momentos de confraternização e troca de experiências de maneira lúdica.

À Liliana (Libis), Débora (Peida), Zé (Zé), Macca (Xanata estridente), Hugo (Bibow), Maurício (Ribeiras), Fabi (Fabiba), Fernanda (Ferr) e Olívia (Fofoca) por muitas risadas e momentos inesquecíveis.

À minha família, por sempre entender minhas constantes ausências nas “poucas” festas e/ou desculpas para mais festas e por todo carinho e incentivo mesmo após longos meses sem encontros.

Ao meu pai, por sempre acreditar na minha capacidade e incentivar minhas escolhas.

À minha mãe, por me apoiar incondicionalmente em todos os momentos de mais esta etapa. Por toda alegria, sabedoria e amor compartilhados de maneira tão natural.

ÍNDICE

Apresentação	7
Capítulo 1: História natural de <i>Leptodactylus bufonius</i> (Amphibia: Anura) no Chaco brasileiro, Mato Grosso do Sul	8
Resumo	9
Introdução	10
Material e métodos	12
Resultados	16
Discussão	21
Agradecimentos	28
Literatura citada	28
Capítulo 2: Esforço reprodutivo e relações de tamanho-fecundidade em <i>Leptodactylus bufonius</i> (Anura: Leptodactylidae) no Chaco brasileiro, Mato Grosso do Sul	35
Resumo	36
Introdução	37
Material e métodos	39
Resultados	42
Discussão	47
Agradecimentos	54
Literatura citada	55
Anexo: <i>Leptodactylus bufonius</i> (Vizcacheras' White-lipped Frog). Spawning behavior	62

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação é apresentada em dois capítulos redigidos em formato de artigo científico, com o intuito de que os comentários e sugestões da banca examinadora sejam diretamente incorporados as futuras publicações. O primeiro capítulo aborda aspectos da história natural de *Leptodactylus bufonius* em seu ambiente natural, seguindo as normas da revista *Journal of Natural History*. O segundo capítulo investiga o esforço reprodutivo e as relações de tamanho-fecundidade desta mesma espécie, seguindo as normas da revista *Journal of Herpetology*. Algumas normas, como por exemplo, separar figuras e legendas do resto do corpo do texto, não foram seguidas para tornar a leitura mais dinâmica.

**História natural de *Leptodactylus bufonius* (Amphibia: Anura) no
Chaco brasileiro, Mato Grosso do Sul**

Gabriel Paganini Faggioni^{a*} e Cynthia Peralta de Almeida Prado^b

a. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil; b. Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brazil.

*Autor para correspondência: Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Cidade Universitária, s/nº, Caixa Postal 549, CEP 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil.

E-mail: faggioni@hotmail.com

História natural de *Leptodactylus bufonius* (Amphibia: Anura) no Chaco brasileiro, Mato Grosso do Sul

Resumo.

Leptodactylus bufonius é uma espécie tipicamente chaquenha, ocorrendo na Bolívia, Argentina, Paraguai e Brasil central. O objetivo deste estudo foi descrever aspectos da história natural de *L. bufonius*, relacionados à reprodução e dieta. Fêmeas com ovócitos e machos em atividade de vocalização ocorreram nos meses de dezembro, janeiro e março. Os indivíduos de *L. bufonius* vocalizavam a partir das 1800 h e permaneciam ativos até por volta de 0100 h. O amplexo ocorreu apenas após a entrada dos indivíduos na câmara subterrânea e mais de dois indivíduos estiveram envolvidos no processo de desova. As câmaras subterrâneas possuíam apenas uma abertura superior e oval. As fêmeas foram maiores e mais pesadas que os machos, porém os machos possuíam cabeça mais comprida e larga. A dieta foi composta, principalmente, pelas ordens Isoptera e Orthoptera, provavelmente estando relacionado às suas disponibilidades.

Palavras-chave: Câmaras subterrâneas; dieta; dimorfismo sexual; Pantanal; reprodução.

1. Introdução

O Chaco é uma formação plana e aberta, incluída na grande diagonal de áreas abertas sul-americanas, que se estende desde a Caatinga, no nordeste brasileiro, até o limite do Chaco no sul da Argentina (Bucher e Huszar 1999; Pennington et al. 2000; Souza et al. 2010). Com uma topografia plana, clima semi-árido e distintas formações vegetais (Prado et al. 1992; Prado 1993; Navarro et al. 2006), o Chaco é uma província biogeográfica bem definida (Morrone 2006), com alto nível de endemismo (e.g., Leynaud e Bucher 1999; Morrone et al. 2004; Brusquetti e Lavilla 2006). A maioria das informações sobre a herpetofauna chaquenha está limitada ao Paraguai e Argentina (e.g., Leynaud e Bucher 1999, Giraudo 2003; Brusquetti e Lavilla 2006). Para o Brasil, a primeira lista das espécies de anfíbios e répteis do Chaco, município de Porto Murinho, foi recentemente publicada (Souza et al. 2010), mas estudos sobre a história natural das espécies encontradas exclusivamente no Chaco, são inexistentes.

Os anfíbios anuros exibem uma grande diversidade de modos reprodutivos, superior ao observado em outros grupos de vertebrados tetrápodes (Duellman e Trueb 1994; Haddad e Prado 2005; Wells 2007). Apesar dos estudos já realizados, descrições de novos modos continuam a ser publicados (e.g., Haddad e Pombal Jr. 1998; Prado et al. 2002). O conhecimento sobre a história natural de anfíbios é fundamental para o nosso entendimento sobre os mecanismos de seleção natural e evolução (Pough 1992). Informações sobre a história natural de anfíbios tais como, tipo de amplexo, local de desova, características dos girinos e período de reprodução, podem ainda ser usadas para testar ou gerar hipóteses.

O gênero *Leptodactylus* (Fitzinger, 1826) é composto por 89 espécies predominantemente neotropicais, distribuídas do sul do Texas até a Argentina e

algumas ilhas caribenhas (Frost 2010). As rãs deste gênero apresentam desde modo reprodutivo completamente aquático até modos reprodutivos terrestres (Heyer 1969; Prado et al. 2002). Com base nos modos reprodutivos e em características morfológicas, Heyer (1969) sugeriu cinco grupos fenéticos para as espécies desse gênero: grupo de *Leptodactylus fuscus*, *L. marmoratus*, *L. melanonotus*, *L. latrans* e *L. pentadactylus*. As espécies incluídas no grupo de *L. latrans* depositam ovos em ninhos de espuma sobre a água e os girinos são aquáticos, enquanto algumas espécies nos grupos de *L. marmoratus* e *L. pentadactylus* possuem desovas e larvas totalmente terrestres (Heyer 1969; Prado et al. 2002). As espécies pertencentes ao grupo de *L. fuscus* representam um estágio intermediário, com desovas terrestres e girinos aquáticos. Os machos das espécies do grupo de *L. fuscus* constroem câmaras subterrâneas próximas a riachos ou poças e vocalizam a partir das câmaras ou próximos a elas (Heyer 1969). As fêmeas são atraídas até essas câmaras, onde ocorre o amplexo e a deposição de ovos em ninhos de espuma (Heyer 1969; Martins 1988); após chuvas ou alagamentos, os girinos são carregados até os corpos de água, onde completam seu desenvolvimento. O ninho de espuma oferece proteção a danos físicos e desidratação, permitindo aos girinos sobreviverem por mais tempo, mesmo em períodos de estiagem prolongada (Duellman 1992; Downie e Smith 2003).

Leptodactylus bufonius Heyer, 1978, pertence ao grupo de *L. fuscus*, o qual é composto por 27 espécies (Frost 2010). A análise de caracteres morfológicos, osteológicos e comportamentais confirmou a monofilia do grupo, onde *L. bufonius* aparece como espécie irmã de *L. troglodytes*, uma espécie da Caatinga (Arzabe e Almeida 1997), ambas formando um dos clados mais basais dentro do grupo (Ponssa, 2008). *Leptodactylus bufonius* é uma espécie tipicamente chaqueña, ocorrendo do sul

da Bolívia ao norte da Argentina, Paraguai e Brasil central (Mato Grosso do Sul) (Frost 2010). Os machos constroem a câmara, utilizando principalmente a cabeça com focinho em forma de cinzel (ver Reading e Jofré 2003), para empurrar e moldar a lama. Após a desova, fêmeas de *L. bufonius* fecham a única abertura da câmara (Crump 1995; Reading e Jofré 2003), o que estaria relacionado à manutenção da umidade no interior da câmara e isolamento térmico do ambiente, já que a espécie ocorre em ambientes sazonais em relação às chuvas e as câmaras subterrâneas ficam completamente expostas ao sol (Reading e Jofré 2003). Trata-se de uma espécie considerada generalista quanto ao seu padrão de forrageamento e sua estratégia pode ser considerada intermediária entre senta-e-espera e forrageador ativo (Duré e Kehr 2004).

Os estudos sobre a ecologia da espécie estão restritos a populações da Argentina (e.g., Philibosian et al. 1974; Crump 1995; Reading e Jofré 2003), sendo possível a ocorrência não só de diferenças morfológicas e fisiológicas, mas também de plasticidade comportamental dependente de fatores bióticos e abióticos ao longo de sua distribuição, principalmente entre populações encontradas no Chaco argentino e o brasileiro.

O presente estudo descreve aspectos da história natural de uma população de *L. bufonius*, tais como os relacionados ao comportamento reprodutivo, características das câmaras subterrâneas, dimorfismo sexual em tamanho e dieta, no Chaco, na região Centro-Oeste do Brasil.

2. Material e Métodos

2.1 Local de estudo. O presente estudo foi realizado em uma fazenda (21°42'39"S, 57°43'16"W) localizada no Chaco brasileiro, município de Porto Murinho, Mato

Grosso do Sul, na região Centro- Oeste do Brasil. Essa região é a única no Brasil sob influência chaquenha. A planície chaquenha ocupa aproximadamente 1.000.000 km², e está distribuída em quatro países: Argentina, Paraguai, Bolívia e Brasil (Bucher e Huszar 1999; Pennington et al. 2000). Além de espécies arbóreas, sua vegetação é composta por arbustos, principalmente de espécies espinhosas da subfamília Mimosoideae, além de espécies das famílias Bromeliaceae e Cactaceae e de algumas gramíneas (Pennington et al. 2000). O Chaco possui clima fortemente sazonal, podendo atingir temperaturas tão altas como 49°C no verão e próximas a 0°C no inverno (Pennington et al. 2000). É classificado como do tipo “Aw”, segundo Köppen, com um período quente e chuvoso de outubro a abril e um período frio e seco de maio a setembro.

Com base na análise de espécies chaquenhas nas diversas comunidades de vegetação do sul do Pantanal, concluiu-se que o Chaco *sensu stricto* é bem menor do que previamente se pensava (Prado et al. 1992), sendo representado somente pelas formações no sudoeste de Porto Murtinho (Prado et al. 1992; Souza et al. 2010). Silva e Abdon (1998) dividiram o Pantanal brasileiro em 11 sub-regiões fisiográficas de acordo com características do solo, vegetação, relevo e regime de inundações. A sub-região de Porto Murtinho (11^a sub-região *sensu* Silva e Abdon 1998) localiza-se abaixo do encontro dos rios Paraguai e Nabileque (Silva e Abdon 1998). Nesta sub-região há ocorrência de alagamentos anuais tanto de origem pluvial como fluvial (Silva e Abdon 1998).

2.2 Trabalho de campo. O estudo foi realizado em uma poça temporária natural, entre dezembro de 2009 e abril de 2010. Foram realizadas 4 campanhas de campo, com duração de 8 dias/mês, nos meses de dezembro/2009, janeiro/2010, março/2010 e

abril/2010, totalizando 32 dias de coletas ou 192 horas. Devido à inundação, não foi possível acessar a área de estudo em fevereiro de 2010. As observações iniciavam às 1830 h e encerravam no momento em que a espécie cessava a atividade de vocalização ou quando o comportamento sob observação finalizava. A poça temporária chegou a ter até 550 m² de superfície de água nos meses de novembro, dezembro e janeiro, e secou completamente a partir março de 2010. Toda sua área é dominada por colônias de cupins (ordem Isoptera), alcançando cerca de 30 cm de altura entre matriz de lama, terra seca e gramíneas (Figura 1).

As observações comportamentais foram realizadas seguindo os métodos de animal focal, registrando todas as ocorrências e amostras por seqüência (Altmann 1974).



Figura 1. Local de estudo no início da estação seca, município de Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil. No período de chuvas, forma-se uma poça temporária natural. Notar os cupinzeiros (seta) distribuídos por toda a área.

2.3 Características das câmaras, dimorfismo sexual e dieta. As câmaras foram caracterizadas por seis medidas: diâmetro maior e menor da abertura da câmara, diâmetro do cone, altura acima do solo, profundidade do compartimento de desova e altura total (soma da altura acima do solo e profundidade do compartimento de desova). A temperatura interna e externa das câmaras foi obtida com auxílio de um Termo-Higrômetro J. Prolab. A temperatura das câmaras encontradas tampadas foi obtida através de pequena perfuração, apenas para possibilitar a passagem do termômetro. Os registros das temperaturas foram feitos entre 1300h e 1330h do mesmo dia para observar se a câmara subterrânea mantém a temperatura interna menor que a externa, mesmo nas horas mais quentes do dia.

Para o estudo do dimorfismo sexual em tamanho e dieta, 93 indivíduos foram coletados, anestesiados e mortos com xilocaína a 5%, sendo em seguida fixados em formalina a 10% e conservados em álcool 70° GL. Obteve-se a massa do corpo de todos os espécimes, com o auxílio de uma balança Sartorius BL 120S de precisão 0,0001 g, e três caracteres morfológicos externos (comprimento rostro-cloacal (CRC), largura da cabeça (LC) e comprimento da cabeça (CC)) foram medidos com o auxílio de um paquímetro de precisão 0,01 mm. Os espécimes foram separados em machos, fêmeas ou jovens de acordo com caracteres externos (saco vocal) e/ou características das gônadas. Para a caracterização da dieta, foram analisados o conteúdo estomacal de dez fêmeas, dez machos e oito jovens. Os estômagos foram retirados através de corte na região abdominal e preservados em álcool 70° GL. O conteúdo estomacal foi analisado com auxílio de microscópio estereoscópico Zeiss, onde os itens alimentares foram identificados até o menor nível taxonômico possível. Em seguida, os itens alimentares

foram quantificados e tiveram o volume estimado após serem comprimidos em placa milimetrada, entre lamínulas de altura conhecida (Hellawell e Abel 1971).

Para comparação do CRC, LC e CC entre machos e fêmeas foi utilizado teste t (Zar, 1999). Nas análises comparativas entre LC e CC, obteve-se a razão LC/CRC (LCP) e CC/CRC (CCP), com o intuito de minimizar a influência do tamanho do corpo sobre as outras variáveis, em seguida aplicou-se teste não paramétrico de Mann-Whitney (Zar 1999), uma vez que proporções não possuem distribuição normal.

Além dos indivíduos coletados durante este trabalho, espécimes pertencentes à Coleção Zoológica de Referência da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, ZUFMS, coletados na mesma fazenda com o uso de armadilhas de interceptação e queda entre 2008 e 2009, foram analisados no presente estudo. Exemplares-testemunho foram depositados na ZUFMS.

3. Resultados

3.1 Observações comportamentais e características das câmaras. Fêmeas com ovócitos e machos em atividade de vocalização foram encontrados nos meses de dezembro, janeiro e março. Durante o mês de abril, quando a poça estava completamente seca, não ocorreu atividade de vocalização e nenhuma fêmea foi observada. Os indivíduos de *Leptodactylus bufonius* (Figura 2) começavam a vocalizar por volta das 1800 h e permaneciam ativos até o início da madrugada, por volta de 0100 h. O número máximo de indivíduos vocalizando em uma noite não passou de dez. Os machos vocalizavam sobre o solo da poça, mas em cinco ocasiões foram avistados machos vocalizando dentro deles. Estes machos estavam dentro de buracos em formato cilíndrico, de entrada circular com espaço apenas para um indivíduo. Com a

aproximação do pesquisador, os indivíduos paravam de vocalizar e permaneciam imóveis. Caso a “ameaça” persistisse, os machos entravam para o fundo do buraco (N = 5). Nos dias seguintes aos avistamentos, todos os buracos onde foram encontrados machos vocalizando estavam desocupados.

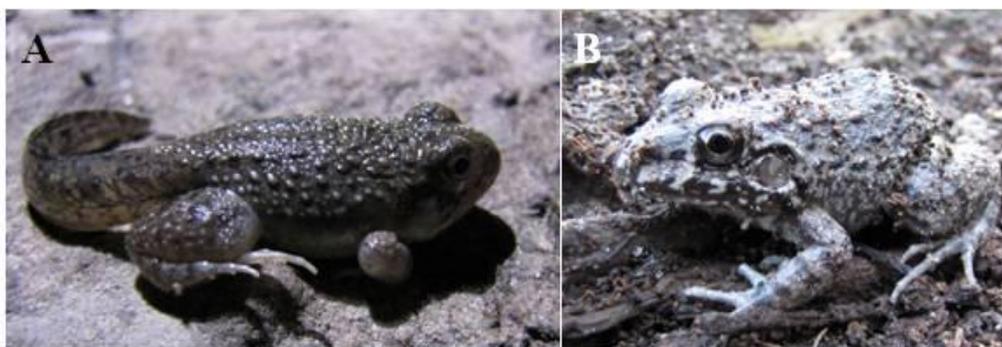


Figura 2. (A) Imago e (B) jovem de *Leptodactylus bufonius*, município de Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Após a fêmea se aproximar de um macho vocalizando, os dois indivíduos entravam na câmara onde a desova de espuma, contendo ovos de coloração amarelada, foi depositada (N = 2). O processo de desova e formação do ninho de espuma foi observado do início ao fim em duas ocasiões, a primeira com duração aproximada de 30 minutos e a segunda com cerca de duas horas (Faggioni et al. no prelo; anexo 1). O amplexo ocorreu apenas dentro das câmaras e nas duas ocasiões foram observados dois machos participando do processo de desova (Faggioni et al. no prelo; anexo 1). Nenhuma das duas câmaras foi tampada após o processo de desova. Nenhum contato entre o macho e a fêmea foi observado antes do início do amplexo. Também não foi observado nenhum comportamento de cuidado parental.

Foram encontradas oito câmaras destampadas sem desova dentro. O compartimento de desova, de formato de arredondado, tem profundidade média de 8 cm

$\pm 1,7$ (amplitude = 6 – 10; N = 8). Acima da altura do solo, o barro depositado em toda borda da câmara se afunilava até uma abertura ovalada com diâmetro maior tendo, em média, $2 \text{ cm} \pm 0,4$ (amplitude = 1,1 – 2,5; N = 8) e o menor $1,4 \text{ cm} \pm 0,4$ (amplitude = 1–2; N = 8). Externamente as câmaras tinham forma de cone, tendo em média $1,9 \text{ cm} \pm 0,5$ (amplitude = 1 – 2,7; N = 8) de altura acima do solo. As câmaras tiveram, em média, $9,9 \text{ cm} \pm 1,5$ (amplitude = 8,3 – 11,9; N = 8) de altura total. O diâmetro do cone foi de $6,9 \text{ cm} \pm 1,4$ (amplitude = 4,7–9; N = 8) (Figura 3). Cinco câmaras contendo desova foram encontradas, sendo quatro tampadas e uma destampada. A diferença entre a temperatura interna e externa das câmaras tampadas foi, em média, de $3,8 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1,7$ (amplitude = 2,2–6,2, N = 4), sendo a temperatura interna menor que a externa (t pareado = 5,74; P = 0,01; df = 3) . Já a câmara destampada apresentou apenas $0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ de diferença entre a temperatura interna e externa.

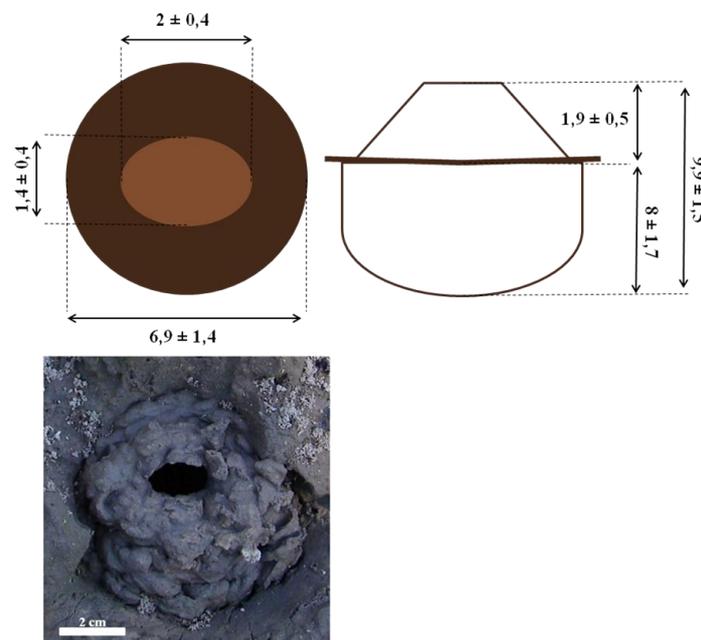


Figura 3. Câmara de desova de *Leptodactylus bufonius* no município de Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil. Acima, diagrama representativo de uma câmara com as medidas obtidas e abaixo imagem externa de uma câmara no local de estudo.

3.2 Dimorfismo sexual em tamanho. Os dados morfométricos dos indivíduos de *L. bufonius* estão descritos na Tabela 1. O CRC das fêmeas foi, em média, maior do que o dos machos ($t = 1,99$; $P = 0,05$; $df = 54$). A LCP dos machos foi, em média, maior do que a das fêmeas (Mann Whitney U-teste: $W = 248,5$; $P = 0,02$), assim como o CCP (Mann Whitney U-teste: $W = 135$; $P < 0,01$). As fêmeas, ainda com ovócitos, foram em média, mais pesadas do que os machos ($t = 3,89$; $P < 0,01$; $df = 54$).

Tabela 1. Valores do comprimento rostro-cloacal (CRC), largura da cabeça (LC), comprimento da cabeça (CC), largura da cabeça proporcionalmente ao CRC (LCP) e comprimento da cabeça proporcionalmente ao CRC (CCP) de machos, fêmeas e jovens de *Leptodactylus bufonius* coletados no município de Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil. DP: Desvio padrão. Em negrito, variáveis com diferença significativa entre machos e fêmeas ($P \leq 0,05$).

	<i>Leptodactylus bufonius</i> (N = 93)					
	Machos (N = 25)		Fêmeas (N = 31)		Jovens (N = 37)	
	média ± DP	amplitude	média ± DP	amplitude	média ± DP	amplitude
CRC (mm)	46,03 ± 2,91	40,63 – 54,74	47,66 ± 3,11	41,28 – 55,99	36,89 ± 3,52	29,22 – 42,43
LC (mm)	17,15 ± 0,80	15,63 – 18,73	17,29 ± 0,96	15,50 – 18,87	13,61 ± 1,44	10,59 – 15,55
CC (mm)	18,31 ± 1,52	15,35 – 22,25	17,52 ± 1,09	15,84 – 20,79	14,75 ± 1,67	10,84 – 18,86
Massa (g)	11,0 ± 2,6	7,4 – 19,4	13,7 ± 2,7	8,4 – 19,4	6,5 ± 2,0	3,4 – 10,5
LCP	0,37 ± 0,02	0,34 – 0,42	0,36 ± 0,01	0,33 – 0,39		
CCP	0,40 ± 0,02	0,36 – 0,45	0,37 ± 0,02	0,33 – 0,40		

3.3 Dieta. Foram analisados os conteúdos de 28 estômagos, sendo dez de fêmeas, dez de machos e oito de jovens. A dieta de *L. bufonius* foi composta por 15 categorias de presas (Tabela 2), sendo a Ordem Isoptera dominante em número (81,82%) e a ordem Orthoptera dominante em volume (26,45%). A ordem Orthoptera ocorreu em nove estômagos, sendo também o item mais frequente.

Tabela 2. Itens alimentares presentes na dieta de *Leptodactylus bufonius*, coletados no município de Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil. n: Número de indivíduos; % n: Porcentagem em relação ao número total de indivíduos; % volume: Porcentagem em relação ao volume total de indivíduos. Volume em mm³.

Categoria de presa	Total (N = 28)			
	n	% n	Volume	% volume
CLASSE INSECTA				
Isoptera	234	81,82	1,300	15,47
Hemiptera	1	0,35	< 0,001	
Orthoptera	11	3,85	2,223	26,45
Hymenoptera (formiga)	12	4,20	0,238	2,83
Hymenoptera (não formiga)	3	1,05	0,060	0,71
Coleoptera	7	2,45	0,466	5,54
Larvas	5	1,75	1,239	14,74
CLASSE ARACHNIDA				
Araneae	2	0,70	0,633	7,53
Acari	1	0,35	< 0,001	
Scorpiones	4	1,40	1,351	16,07
Pseudoscorpiones	1	0,35	0,013	0,15
Uropygi	1	0,35	0,002	0,02
CLASSE CHILOPODA				
Scolopendromorpha	2	0,70	0,240	2,86
ORDEM ANURA				
<i>Leptodactylus</i> sp.	1	0,35	0,420	5,00
<i>Elachistocleis</i> sp.	1	0,35	0,220	2,62
TOTAL	286	100	8,405	100

Nos machos, a Ordem Isoptera foi o item dominante em número (87,43%) e o segundo em volume (32,14%), ficando atrás apenas da Ordem Orthoptera (33,88%). Orthoptera foi o item mais frequente, sendo encontrado em cinco estômagos (Tabela 3). Nas fêmeas, a ordem Isoptera também foi o item dominante em número (79,31%) e a Ordem Scorpiones dominou em volume (29,47%). A categoria Larvas também representou boa parte do volume estomacal das fêmeas (22,38%), seguida pela Ordem Orthoptera (15,02%). Nenhum item alimentar foi dominante em frequência de ocorrência (Tabela 3). Assim como em machos e fêmeas, nos jovens a ordem Isoptera dominou em número (62,22%) e a ordem Orthoptera em volume (34,05%). O item mais

frequente foi Hymenoptera (formiga), encontrado em cinco estômagos. Apenas jovens continham vertebrados (Ordem Anura) no estômago. Um *Leptodactylus* sp. e um *Elachistocleis* sp. foram encontrados em dois dos oito estômagos, representando 21,37% e 11,20% do volume, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Itens alimentares presentes na dieta de machos, fêmeas e jovens de *Leptodactylus bufonius*, coletados no município de Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil. n: Número de indivíduos; % n: Porcentagem em relação ao número total de indivíduos; % volume: Porcentagem em relação ao volume total de indivíduos. Volume em mm³.

Categoria de presa	Machos (N = 10)					Fêmeas (N = 10)					Jovens (N = 8)				
	n	% n	Volume	% volume	F.O.	n	% n	Volume	% volume	F.O.	n	% n	Volume	% volume	F.O.
CLASSE INSECTA															
Isoptera	160	87,43	1,000	32,14	4	46	79,31	0,200	6,01	1	28	62,22	0,100	5,09	1
Hemiptera	1	0,55	<0,001		1										
Orthoptera	7	3,83	1,054	33,88	5	2	3,45	0,500	15,02	2	2	4,44	0,669	34,05	2
Hymenoptera (formiga)	5	2,73	0,042	1,35	2	1	1,72	0,058	1,74	1	6	13,33	0,138	7,02	5
Hymenoptera (não formiga)	1	0,55	0,016	0,51	1						2	4,44	0,044	2,24	2
Coleoptera	1	0,55	0,180	5,79	1	2	3,45	0,212	6,37	2	4	8,89	0,074	3,77	3
Larvas	2	1,09	0,194	6,24	2	2	3,45	0,745	22,38	2	1	2,22	0,300	15,27	1
CLASSE ARACHNIDA															
Araneae						2	3,45	0,633	19,01	2					
Acari	1	0,55	<0,001		1										
Scorpiones	1	0,55	0,370	11,89	1	3	5,17	0,981	29,47	2					
Pseudoscorpiones	1	0,55	0,013	0,42	1										
Uropygi	1	0,55	0,002	0,06	1										
CLASSE CHILOPODA															
Scolopendromorpha	2	1,09	0,240	7,71	1										
ORDEM ANURA															
<i>Leptodactylus</i> sp.											1	2,22	0,420	21,37	1
<i>Elachistocleis</i> sp.											1	2,22	0,220	11,20	1
TOTAL	183	100	3,111	100		58	100	3,329	100		45	100	1,965	100	

4. Discussão

4.1 Observações comportamentais e características das câmaras. Espécies do grupo de *L. fuscus* apresentam grande variação quanto ao período e horário de atividade reprodutiva. *Leptodactylus furnarius*, por exemplo, é capaz de reproduzir-se o ano inteiro e nas horas mais quentes do dia (Giaretta e Kokubum 2003). *Leptodactylus*

fuscus e *L. mystacinus* se reproduzem durante os meses de maior precipitação e apenas a partir do fim da tarde (Martins 1988; De-Carvalho et al. 2008) e *L. troglodytes* se reproduz nos meses mais chuvosos iniciando a vocalização a partir das 1700 h (Arzabe 1999; Kokubum et al. 2009). No presente estudo, machos de *L. bufonius* foram ouvidos em atividade de vocalização a partir das 1800 h, nos meses de dezembro, janeiro e março, sempre após *L. fuscus*, que iniciava a vocalização por volta das 1700 h (obs. pess.). Além disso, no mês de abril não houve registro de vocalização, o que pode estar relacionado à baixa precipitação de março (75 mm) e abril (30 mm), devido ao fim da época chuvosa (outubro a março). A baixa precipitação não foi suficiente para manter as poças, que em abril, já estavam completamente secas.

Machos de *L. bufonius* vocalizam próximos ou de dentro das câmaras (Crump 1995; Reading e Jofré 2003). No presente estudo não foram observados machos vocalizando de dentro das câmaras, mas somente próximos a elas. Machos de *L. bufonius* também vocalizavam a partir de cavidades já existentes nos cupinzeiros, local onde não observou-se casais em amplexo. Arzabe e Almeida (1997) observaram machos de *L. troglodytes* vocalizando de dentro de cupinzeiros. Este comportamento reforça a idéia de nicho fossorial (Heyer 1978), podendo estar relacionado à proteção contra queimadas (Miranda et al. 1993; Arzabe e Almeida 1997) e predação, já que as vocalizações não atraem apenas as fêmeas, mas também podem atrair predadores como morcegos ou aves (Ryan 1985; Arzabe e Almeida 1997; Arzabe e Prado 2006), ou ainda pode até estar relacionado à ampliação de alguma característica do canto. Assim, como observado por Reading e Jofré (2003), o amplexo ocorre apenas nas câmaras e após a entrada dos indivíduos, já que a abertura da câmara é pequena para entrada de um casal em amplexo. Dentro da câmara o processo de desova ocorre como já descrito na

literatura. À medida que a fêmea libera os óvulos, o macho libera os espermatozóides e, com movimentos alternados das pernas, forma o ninho de espuma, o qual envolve os ovos com coloração amarelada (Reading e Jofré 2003; presente estudo).

No presente estudo, a maior parte das câmaras de *L. bufonius* contendo desovas tinham a abertura tampada. Fêmeas de *L. bufonius* já foram observadas fechando a abertura da câmara após a desova em estudos realizados na Argentina (Philibosian et al. 1974; Crump 1995). Algumas câmaras de *L. fuscus*, *L. camaquara* e *L. cunicularius* foram observadas tampadas em áreas abertas do centro e sudeste brasileiros (Sazima e Bokermann 1978; Lucas et al. 2008). Tal comportamento parece ser uma adaptação de espécies de *Leptodactylus* do grupo *fuscus* a ambientes fortemente sazonais, embora não tenha sido observado em *L. troglodytes*, espécie semelhante morfológicamente e que habita ambientes de cerrado e caatinga (Kokubum et al. 2009). Ainda que com poucos dados, os resultados aqui apresentados indicam que o fechamento da única abertura da câmara mantém a temperatura interna abaixo da temperatura do ambiente. Tal fato também foi verificado na Argentina (Reading e Jofré 2003), devendo estar relacionado a vantagens em termos de manutenção da umidade, temperatura adequada aos embriões e proteção contra predadores.

A observação de uma câmara destampada contendo desova ter sido observada na área de estudo, e das fêmeas observadas em amplexo não terem fechado as câmaras, indicam que este comportamento seja facultativo na população estudada. Algumas espécies do gênero *Leptodactylus* exibem cuidado parental de desovas e girinos (e.g., Martins 2001; Prado et al. 2000; Giaretta e Oliveira-Filho 2006). Devido ao maior tempo de exposição a predadores e também ao possível elevado custo energético, o comportamento de fechamento das câmaras realizado pelas fêmeas de *L. bufonius* foi

considerado por alguns autores como sendo um tipo de cuidado parental (Ceï 1949; Crump 1995), embora esta interpretação não seja sempre aceita (e.g., Reading e Jofré 2003).

Durante o presente estudo, foram encontradas câmaras que ainda não haviam sido utilizadas para reprodução. Philibosian et al. (1974), em estudo realizado com *L. bufonius* na Argentina, observaram apenas três, de 20 câmaras, sendo utilizadas na mesma noite em que foram construídas. As 17 restantes foram utilizadas apenas a partir do dia seguinte. Reading e Jofré (2003), ainda na Argentina, também verificaram que nenhuma câmara foi utilizada na mesma noite em que foi construída. Deixá-las secar, por pelo menos um dia, poderia aumentar a impermeabilidade, diminuindo a perda de umidade interna da toca para o ambiente externo (Reading e Jofré 2003). No presente estudo, oito câmaras foram observadas vazias, o que poderia ser explicado pelo motivo exposto acima, bem como pela baixa disponibilidade de fêmeas grávidas na noite de observação.

As medidas das câmaras foram semelhantes às registradas por Reading e Jofré (2003), Pisanó et al. (1993) e Philibosian et al. (1974), porém menores do que as encontradas por Crump (1995). Provavelmente Crump (1995) tomou medidas de câmaras ainda inacabadas, o que explicaria tais diferenças (Reading e Jofré 2003). Embora câmaras subterrâneas construídas pelos machos, onde as desovas são depositadas, seja característica comum ao grupo de *L. fuscus* (Heyer 1969), o formato, tamanho, número de aberturas, número de compartimentos internos e locais onde a câmara é construída podem variar (veja Arzabe e Prado 2006). As câmaras de *L. fuscus*, por exemplo, possuem túnel de entrada bem definido e podem conter abertura lateral (Martins 1988; Giaretta e Kokubum 2003). *Leptodactylus furnarius* constrói câmaras

sem túnel de entrada evidente e possuem abertura lateral (Giaretta e Kokubum 2003) e *L. mystacinus* escava câmaras praticamente esféricas, também sem túnel evidente (Giaretta e Oliveira Filho 2006; Oliveira Filho e Giaretta 2008). Diferentes pressões seletivas tais como tipo de solo, hábitat, pressão de predação, restrições termais e disponibilidade de água ou umidade no ambiente, devem estar envolvidas na evolução dos diferentes tipos de ninhos (Arzabe e Prado 2006).

4.2 Dimorfismo sexual em tamanho. Os resultados indicam que, de maneira geral, fêmeas e machos tornam-se reprodutivos quando atingem 41 mm. No presente estudo, as fêmeas foram maiores e mais pesadas do que os machos, resultado também encontrado por Reading e Jofré (2003) em uma população de *L. bufonius* estudada na Argentina. Heyer (1978) também descreveu fêmeas maiores do que os machos. Todavia, tanto os machos como as fêmeas do presente estudo foram menores do que os descritos nos trabalhos acima. Dimorfismo sexual em tamanho existe em muitas espécies de anuros e na maioria deles as fêmeas são maiores do que os machos (e.g., Reading e Jofré 2003; De-Carvalho et al. 2008; Oliveira Filho e Giaretta 2008). A explicação mais comumente aplicada a este fato é que fêmeas maiores são capazes de produzir mais ovócitos, uma vez que o aumento no CRC e na massa corpórea costumam estar relacionados ao aumento de número de ovócitos no ovário (Martins 1988; Lüddecke 2002; Prado e Haddad 2005). Porém, o dimorfismo sexual pode resultar de interações complexas entre pressões que afetam o tamanho do macho e aquelas que afetam o das fêmeas, tais como as características sob seleção sexual, tempo de maturação, taxas de crescimento e dieta entre machos e fêmeas, bem como variações na estrutura etária (Monnet e Cherry 2002).

Embora as fêmeas tenham comprimento do corpo maior do que os machos, tanto a largura como o comprimento da cabeça dos machos de *L. bufonius* do presente estudo foram maiores proporcionalmente ao comprimento do corpo em relação às fêmeas. A razão LC/CRC (LCP no presente estudo) não foi significativamente diferente entre machos e fêmeas no trabalho de Heyer (1978), mas a razão CC/CRC (CCP) foi maior nos machos. Reading e Jofré (2003) não encontraram diferença na largura da cabeça, também proporcionalmente ao comprimento do corpo, entre machos e fêmeas. Espécies do grupo de *L. fuscus*, nas quais já foram observados machos construindo câmaras, estes possuíam cabeça mais longa do que a das fêmeas, reflexo do desenvolvimento de focinho em forma de cinzel utilizado na escavação das câmaras (Heyer 1978). A largura da cabeça não parece ter relação com este comportamento e talvez esteja relacionada às vocalizações (Heyer 1978). Além disso, como ressaltado por Reading e Jofré (2003), os diferentes resultados encontrados por eles, Heyer (1978) e o presente estudo podem estar relacionados à origem dos espécimes analisados. Heyer (1978) analisou espécimes provenientes do Brasil, Argentina, Bolívia e Paraguai. Reading e Jofré (2003) analisaram espécimes coletados na Argentina e o presente estudo analisou apenas espécimes coletados no Brasil.

4.3 Dieta. A estratégia de forrageamento de anuros pode variar dentro de um contínuo entre os extremos de senta-e-espera e forrageador ativo (Duellman e Trueb 1994), embora a existência desse contínuo seja controversa (Vitt e Caldwell 2009). Com base nos tipos e proporções de presas consumidas, *L. bufonius* é considerado intermediário entre esses dois extremos (Duré e Kehr 2004). *Leptodactylus bufonius* consumiu sete categorias de presas em estudo realizado na Argentina (Duré e Kehr 2004), menos da metade encontrado no presente estudo. Embora a variedade de itens alimentares tenha

sido maior, a dominância em número e volume foi restrita a poucos táxons. No presente estudo, a ordem Orthoptera dominou em volume, enquanto Coleoptera foi mais representativa no trabalho de Duré e Kehr (2004). A ordem Isoptera, formada por insetos coloniais (Triplehorn e Johnson 2005), foi dominante em número no presente estudo e no trabalho de Duré e Kehr (2004), sendo também o item mais numeroso em machos, fêmeas e jovens no presente estudo. Duré e Kehr (2004) verificaram que a ordem Isoptera esteve associada à ambientes secos e Orthoptera à ambientes formados por gramíneas e lama, exatamente as características da poça temporária natural onde o presente estudo foi realizado. A ordem Orthoptera foi dominante, volumetricamente, na dieta dos jovens e esteve entre os itens mais representativos nos machos e fêmeas da área do presente estudo. Muitos anuros são insetívoros e considerados forrageadores oportunistas, e suas dietas podem ser consideradas um reflexo da disponibilidade de presas no ambiente (Eterovick e Sazima 2004). Desta forma, a dominância da ordem Isoptera e Orthoptera na dieta de *L. bufonius* pode estar associada, entre outros fatores, as suas disponibilidades no local de estudo, fato que necessita ser melhor investigado em estudos futuros.

Peixes, anuros, roedores e outros pequenos vertebrados, podem ser consumidos pelas maiores espécies de anuros (Duellman e Trueb 1994). O consumo de vertebrados já foi registrado em trabalhos com espécies consideradas grandes, pertencentes ao gênero *Leptodactylus* (e.g., *Leptodactylus labyrinthicus*: Cardoso e Sazima 1977; *L. chaquensis*: Piatti e Souza no prelo), mas o tamanho não implica necessariamente em consumo de tais presas (e.g., *L. pentadactylus*: Galatti 1992). No presente estudo foram encontradas duas espécies de anuros (*Leptodactylus* sp. e *Elachistocleis* sp.) no estômago dos jovens. Embora tenham sido itens de relativa importância volumétrica,

apenas um indivíduo de cada espécie foi predado e por isso *L. bufonius* não deve ser um predador importante dessas espécies, além disso, a ingestão pode ter sido acidental.

Nossos resultados mostram que *Leptodactylus bufonius* pode apresentar plasticidade em aspectos de sua história natural ao longo de sua distribuição geográfica. As novas informações sobre sítio e horários da atividade de vocalização, a íntima relação com os cupinzeiros (fornecendo abrigo e alimento), duração do amplexo, variações morfométricas e os itens alimentares aqui descritos, são evidências de tal fato. Desta forma, apenas através de estudos de diferentes populações será possível identificar as variações nos comportamentos reprodutivos e morfologia, bem como identificar os fatores ambientais responsáveis por tais diferenciações.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem a Oswaldo Ovelar (Seu Bala), que gentilmente abriu as portas de sua fazenda para que este trabalho fosse realizado. Ao Seu Alberto e Dona Paula pela hospitalidade. A G. Gracioli, R. Aranda e C. Aoki pela ajuda na identificação do conteúdo estomacal e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pela bolsa de estudo.

6. Literatura citada

- Altmann J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour* 15: 227 – 267.
- Arzabe C. 1999. Reproductive activity patterns of anurans in two different altitudinal sites within the Brazilian Caatinga. *Rev Bras Zoo.* 16:851 – 864.
- Arzabe C, Almeida CC. 1997. Life history notes on *Leptodactylus troglodytes* (Anura, Leptodactylidae) in northeastern Brazil. *Amphibia–Reptilia* 18:211 – 215.

- Arzabe C, Prado CPA. 2006. Distinct architectures of subterranean nests in the genus *Leptodactylus* of the *fuscus* group. *Herpetol Rev.* 37:23 – 26.
- Brusquetti F, Lavilla EO. 2006. Lista comentada de los anfibios de Paraguay. *Cuad Herpetol.* 20:3 – 79.
- Bucher EH, Huszar PC. 1999. Sustainable management of the Grand Chaco of South America: ecological promise and economic constraints. *J Environ Manage.* 57:99 – 108.
- Cardoso AJ, Sazima I. 1977. Batracofagia na fase adulta e larvária da rã-pimenta, *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix,1824) – Anura Leptodactylidae. *Ciência e Cultura* 29:1130 – 1132.
- Cei JM. 1949. Costumbres nupciales y reproduccion de un batracio característico chaqueño (*Leptodactylus bufonius* Boul.). *Acta Zool Lilloana.* 8:105 – 110.
- Crump ML. 1995. *Leptodactylus bufonius* (NCN): reproduction. *Herpetol Rev.* 26:97 – 98.
- De-Carvalho CB, Freitas EB, Faria RG, Batista RC, Batista CC, Coelho WA, Bocchiglieri A. 2008. História natural de *Leptodactylus mystacinus* e *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) no Cerrado do Brasil central. *Biota Neotrop* 8:105 – 115.
- Downie JR, Smith J. 2003. Survival of larval *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) out of water: developmental differences and interspecific comparisons. *J Herpetol.* 37:107 – 115.
- Duellman WE, Trueb L. 1994. *Biology of Amphibians.* 2ª edição. New York: McGraw-Hill.
- Duellman WE. 1992. Estrategias reproductoras de las ranas. *Sci Am.* 192:54 – 62.

- Duré MI, Kehr AI. 2004. Influence of microhabitat on the trophic ecology of two leptodactylids of from northeastern Argentina. *Herpetologica* 60:295 – 303.
- Eterovick PC, Sazima I. 2004. Anfíbios da Serra do Cipó. Editora PUC Minas, Belo Horizonte.
- Faggioni, G. P., Prado, C. P. A., Souza, F. L., Uetanabaro, M. e Filho, P. L. no prelo. *Leptodactylus bufonius* (vizcacheras' white-lipped frog): spawning behavior. *Herpetological Review* 42:xx – xx.
- Frost DR. 2010. Amphibians species of the world: an online reference, version 5.4 (8 April, 2010). Electronic data base accessible at <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Galatti U. 1992. Population biology of the frog *Leptodactylus pentadactylus* in a central amazon rainforest. *J Herpetol.* 26:23 – 31.
- Giaretta AA, Kokubum MNC. 2003. Reproductive ecology of *Leptodactylus furnarius* Sazima & Bokermann, 1978, a frog that lays eggs in underground chambers (Anura, Leptodactylidae). *Herpetozoa.* 16:115 – 126.
- Giaretta AA, Oiveira-Filho JC. 2006. *Leptodactylus mystacinus* (shovel-nosed frog): parental care. *Herpetol Rev.* 37:204 – 205.
- Giraud A. 2003. Serpientes de la selva paranaense y del chaco húmedo. 1ª edição. Buenos Aires: L.O.L.A. (Literature of Latin América).
- Haddad CFB, Prado CPA. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *BioScience* 55:207 – 217.

- Haddad CFB, Pombal Jr. JP. 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger* (Anura: Leptodactylidae) and description of two new reproductive modes. *J Herpetol.* 32:557 – 565.
- Hellawell JM, Abel R. 1971. A rapid volumetric method for the analysis of the food of fishes. *J Fish Biol.* 3:29 – 37.
- Heyer WR. 1969. The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Evolution* 23:421 – 428.
- Heyer WR. 1978. Systematics of the fuscus group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Nat Hist Museum of Los Angeles County Science Bul* 29:1 – 85.
- Kokubum MNC, Maciel NM, Matsushita RH, Queiróz-Júnior AT, Sebben A. 2009. Reproductive biology of the Brazilian sibilator frog *Leptodactylus troglodytes*. *Herpetol J.* 19:119 – 126.
- Leynaud GC, Bucher EH. 1999. La fauna de serpientes del Chaco Sudamericano: diversidad, distribución geográfica y estado de conservación. *Acad. Nac. Cienc. (Cordoba Argent.) Misc.* 98:1 – 45.
- Lucas EM, Brasileiro CA, Oyamaguchi HM, Martins M. 2008. The reproductive ecology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae): new data from natural temporary ponds in the Brazilian Cerrado and a review throughout its distribution. *J Nat Hist.* 42:2305 – 2320.
- Luddecke H. 2002. Variation and trade-off in reproductive output of the Andean frog *Hyla labialis*. *Oecologia* 130:403 – 410.
- Martins IA. 2001. Parental care behaviour in *Leptodactylus podicipinus* (Cope, 1982) (Anura, Leptodactylidae). *Herpetol J* 11:29 – 32.

- Martins M. 1988. Biologia Reprodutiva de *Leptodactylus fuscus* em Boa Vista, Roraima (Amphibia: Anura). Rev Bras Biol. 48:969 – 977.
- Miranda AC, Miranda HS, Dias LFO, Dias BFS. 1993. Soil and air temperatures during prescribed cerrado fires in central Brazil. J Trop Ecol. 9:313 – 320.
- Monnet J, Cherry MI. 2002. Sexual size dimorphism in anurans. P Roy Soc Lond B Bio. 269:2301 – 2307.
- Morrone JJ, Mazzucconi SA, Bachmann AO. 2004. Distributional patterns of Chacoan water bugs (Heteroptera: Belostomatidae, Corixidae, Micronectidae and Gerridae). Hydrobiologia 523:159 – 173.
- Morrone JJ. 2006. Biogeographic areas and transition zones of latin America and the caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. Annu Rev Entomol. 51:467 – 494.
- Navarro G, Molina JÁ, Molas LP. 2006. Classifications of the forests of the northern Paraguayan Chaco. Phytocoenologia 36:473 – 508.
- Oliveira-Filho JC, Giaretta AA. 2008. Reproductive behavior of *Leptodactylus mystacinus* (Anura, Leptodactylidae) with notes on courtship call of other *Leptodactylus* species. Iheringia Ser Zool. 98:508 – 515.
- Pennington RT, Prado DE, Pendry CA. 2000. Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. J Biogeogr. 27:261 – 273.
- Philibosian R, Ruibal R, Shoemaker VH, McClanahan LL. 1974. Nesting behaviour and early larval life of the frog *Leptodactylus bufonius*. Herpetologica 30:381 – 386.
- Piatti L, Souza FL. (no prelo). Diet and resource partitioning among anurans in irrigated rice fields in Pantanal, Brazil. Rev Bras Biol.

- Pisanó A, Rengel D, Lavilla ED. 1993. Le nid souterrain comme chambre nuptiale pour un amphibien d'Argentine. *Rev Fr Aquariol.* 19:125 – 126.
- Ponssa ML. 2008. Cladistic analysis and osteological descriptions of the species of the *L. fuscus* species group of the genus *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae). *J Zool Syst Evol Res.* 46:249 – 266.
- Pough FH. 1992. *Environmental Physiology of the Amphibians*. Chicago: The University Of Chicago Press. Capítulo 14, Behavioral energetics and the ecology of amphibians; p. 395 – 436.
- Prado CPA, Haddad CFB. 2005. Size-fecundity relationships and reproductive investment in female frogs in the Pantanal, south-western Brazil. *Herpetol J.* 15:181 – 189.
- Prado CPA, Uetanabaro M, Haddad CFB. 2002. Description of a new reproductive mode in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with a review of the reproductive specialization toward terrestriality in the genus. *Copeia* 4:1128 – 1133.
- Prado CPA, Uetanabaro M, Lopes FS. 2000. Reproductive strategies of *Leptodactylus chaquensis* and *L. podicipinus* in the Pantanal, Brazil. *J Herpetol.* 34:135 – 139.
- Prado DE, Gibbs PE, Pott A, Pott VJ. 1992. *Nature and Dynamics of Forest-Savanna Boundaries*. 1ª edição. London: Chapman & Hall, London. The chaco-transition in southern Mato-Grosso, Brazil; p. 451 – 470.
- Prado DE. 1993. What is the Gran Chaco vegetation in South America? A review. *Contribution to the study of flora and vegetation of the Chaco*. V. Candollea 48:145 – 172.

- Reading CJ, Jofré GM. 2003. Reproduction in the nest building vizcacheras frog *Leptodactylus bufonius* in central Argentina. *Amphibia-Reptilia* 24:415 – 427.
- Ryan MJ. 1985. The tungara frog. A Study in Sexual Selection and Communication. 1ª edição. Chicago: The University of Chicago.
- Santos EM, Amorim FO. 2006. Parental care behaviour in *Leptodactylus natalensis* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Iheringia Ser Zool.* 96:491 – 494.
- Sazima I, Bokermann WCA. 1978. Five new species of *Leptodactylus* from central and southeastern Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Rev Bras Biol.* 38:899 – 912.
- Silva JSV, Abdon MM. 1998. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-regiões. *Pesq Agropec Bras.* 33:1703 – 1711.
- Souza FL, Uetanabaro M, Landgraf-Filho P, Piatti L, Prado CPA. 2010. Herpetofauna, municipality of Porto Murtinho, Chaco region, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Check List* 6:470 – 475.
- Triplehorn CA, Johnson NF. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. 7ª edição. California: Thomson Learning Inc.
- Vitt LJ, Caldwell JP. 2009. Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. 3ª edição. Massachusetts: Elsevier Inc.
- Wells KD. 2007. The Ecology and Behavior of Amphibians. 1ª edição. Chicago: The University of Chicago Press.
- Zar J. 1999. Biostatistical Analysis. 4ª edição. New Jersey: Prentice Hall.

1

2 LRH: G. Faggioni e C. Prado

3

4 RRH: Esforço reprodutivo e relações de tamanho-fecundidade em *Leptodactylus*

5 *bufonius*

6

7 Esforço reprodutivo e relações de tamanho-fecundidade em *Leptodactylus bufonius*

8 (Anura: Leptodactylidae) no Chaco brasileiro, Mato Grosso do Sul

9

10 Gabriel P. Faggioni^{1,3} e Cynthia P. A. Prado²

11

12 ¹ Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de

13 Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul 79070-900, Brasil

14 ² Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Estadual Paulista,

15 São Paulo, Jaboticabal 14884-900, Brazil

16

17 Palavras-chave: Chaco, investimento reprodutivo, poliandria, *trade-off*.

18

19 ³ Autor para correspondência: faggioni@hotmail.com

20 **Esforço reprodutivo e relações de tamanho-fecundidade em *Leptodactylus bufonius***
21 **(Anura: Leptodactylidae) no Chaco brasileiro, Mato Grosso do Sul**

22

23 **Resumo.**

24 Devido à competição espermática, machos de espécies poliândricas costumam
25 apresentar testículos maiores do que espécies que não apresentam tal comportamento.
26 Para fêmeas, a característica fenotípica que mais limita o esforço reprodutivo (ER) é o
27 tamanho do corpo. Por isso, espera-se que fêmeas maiores possuam mais ovócitos ou
28 ovócitos maiores em seus ovários. O presente estudo apresenta dados sobre o esforço
29 reprodutivo, medido como a razão entre massa das gônadas e massa do corpo, de
30 *Leptodactylus bufonius* e sobre as relações de tamanho-fecundidade em fêmeas desta
31 mesma espécie. Os elevados valores da massa dos testículos e ER, além da observação
32 de dois machos na toca com uma única fêmea, indicam a ocorrência de poliandria na
33 espécie. A massa do corpo foi a variável mais adequada para predição do potencial
34 reprodutivo das fêmeas. Fêmeas maiores possuíam mais ovócitos e não houve *trade-off*
35 entre número e tamanho dos mesmos.

36

37 Palavras-chave: Pantanal, investimento reprodutivo, poliandria, *trade-off*.

38

39

40

41

42 A história de vida de um determinado organismo pode ser considerada como
43 sendo o resultado de três processos biológicos: sobrevivência, crescimento e
44 reprodução. Para um indivíduo, com recursos energéticos limitados, cada processo irá
45 receber parte da energia assimilada pelo organismo, parte esta que não estará mais
46 disponível a um dos outros dois processos (Gadgil e Bossert, 1970). Um *trade-off*
47 ocorre quando um aumento na aptidão, devido ao incremento de recursos à determinado
48 processo de um organismo, ocorre em detrimento de outra característica da história de
49 vida do organismo (Stearns, 1989; Roff e Fairbairn, 2007). Teoricamente, a alocação de
50 recursos em um evento reprodutivo pode diminuir a quantidade de recursos disponíveis
51 ao crescimento e sobrevivência, afetando a reprodução futura (Reznick, 1992). Desta
52 forma, este tipo de permuta impõe um custo ao organismo, conhecido como custo da
53 reprodução, o qual tem sido tema central no desenvolvimento de teorias relacionadas as
54 histórias de vida (Stearns, 1989; Reznick, 1992).

55 Em anuros, maior atenção tem sido dada a relação entre tamanho do corpo da
56 fêmea e características reprodutivas, tais como massa e comprimento das gônadas,
57 número de ovos por desova ou diâmetro dos ovos (e.g., Giaretta e Kokubum, 2003;
58 Kokubum e Giaretta, 2005; Prado e Haddad, 2005). Isso provavelmente ocorre porque
59 em anuros a característica fenotípica que mais limita o esforço reprodutivo é o tamanho
60 do corpo (Duellman e Trueb, 1994), sendo que, de maneira geral, fêmeas maiores
61 depositam mais ovos (e.g., Prado e Uetanabaro, 2000; Wogel et al., 2002). Estudos
62 demonstram o esforço reprodutivo como uma proporção entre a massa das gônadas e
63 massa do corpo ou volume da desova e volume do corpo (e.g., Prado e Haddad, 2005;
64 Maragno e Cechin, 2009; Pupin et al., 2010). Estudos já realizados mostraram, por
65 exemplo, que a variação intra-específica no esforço reprodutivo é geralmente explicada

66 pelas condições ambientais e características das fêmeas (e.g., Luddecke, 2002; Reading
67 e Jofré, 2003; Castellano et al., 2004) e a variação interespecífica costuma estar
68 relacionada ao modo reprodutivo das espécies (e.g., Ryan, 1992; Pupin et al., 2010) e
69 tamanho das fêmeas (e.g., Perotti, 1997; Prado e Haddad, 2005).

70 Em relação ao investimento em gônadas em machos de anuros, este pode ser
71 influenciado pela competição espermática (e.g., Prado e Haddad, 2003). Algumas
72 espécies de anuros podem apresentar poliandria, ou seja, os ovócitos de uma única
73 fêmea podem ser fecundados por mais de um macho (e.g., D'Orgeix e Turner, 1995).
74 Uma vez que a competição entre machos para fecundar um maior número de ovócitos
75 pode ser comparada a uma loteria, onde mais espermatozóides liberados significam
76 maiores chances de fecundação (Jennions e Passmore, 1993), machos de espécies
77 poliândricas e com fertilização externa, como a maioria dos anuros, devem passar por
78 forte seleção para um aumento dos testículos (Byrne et al., 2002), tornando-se capazes
79 de produzir maior quantidade de espermatozóides, e assim aumentar o sucesso de
80 fecundação (Jennions e Passmore, 1993).

81 O gênero neotropical *Leptodactylus* inclui espécies que apresentam desde modo
82 reprodutivo completamente aquático até espécies com modos reprodutivos mais
83 terrestres (Heyer, 1969; Duellman, 1985). Com base nos modos reprodutivos e em
84 características morfológicas, Heyer (1969) sugeriu cinco grupos fenéticos para as
85 espécies desse gênero: grupo de *Leptodactylus fuscus*, *L. marmoratus*, *L. melanonotus*,
86 *L. latrans* e *L. pentadactylus*. As espécies incluídas no grupo de *L. latrans* depositam
87 ovos em ninhos de espuma na água e os girinos são aquáticos, enquanto algumas
88 espécies nos grupos de *L. marmoratus* e *L. pentadactylus* possuem desovas e larvas
89 totalmente terrestres (Heyer, 1969; Prado et al., 2002). As espécies pertencentes ao

90 grupo de *L. fuscus* representam um estágio intermediário, com desovas terrestres e
91 girinos aquáticos. Os machos das espécies do grupo de *L. fuscus* constroem tocas
92 subterrâneas próximas a riachos ou poças e vocalizam a partir das tocas ou próximos a
93 elas (Heyer, 1969). As fêmeas são atraídas até essas tocas, onde ocorre o amplexo e a
94 deposição dos ovos em ninho de espuma (Heyer, 1969; Martins, 1988); após chuvas ou
95 alagamentos, os girinos são carregados até os corpos de água, onde completam seu
96 desenvolvimento. O ninho de espuma oferece proteção a danos físicos e desidratação,
97 permitindo aos girinos sobreviverem por mais tempo mesmo em períodos secos
98 (Duellman, 1992; Downie e Smith, 2003).

99 *Leptodactylus bufonius*, que pertence ao grupo de *L. fuscus*, é uma espécie
100 tipicamente chaquenha, ocorrendo do sul da Bolívia ao norte da Argentina, Paraguai e
101 Brasil central (Mato Grosso do Sul) (Frost, 2010). Estudos sobre a ecologia da espécie
102 estão restritos a populações da Argentina (e.g., Philibosian et al., 1974; Crump, 1995;
103 Reading e Jofré, 2003), portanto, é possível que haja não só diferenças morfológicas e
104 fisiológicas, mas também plasticidade comportamental dependente de fatores bióticos e
105 abióticos nos diferentes locais ao longo de sua distribuição.

106 O presente estudo descreve a ecologia reprodutiva de *L. bufonius* por meio da
107 medida do esforço reprodutivo e do estudo das relações de tamanho-fecundidade em
108 fêmeas. A estratégia reprodutiva da população aqui estudada foi comparada com a de
109 outras já estudadas, bem como com as de espécies filogeneticamente próximas.

110 **Material e Métodos**

111 **Trabalho de campo.** Este estudo foi realizado em uma fazenda (21°42'39"S,
112 57°43'16"W) localizada no Pantanal sul, município de Porto Murtinho, Mato Grosso do

113 Sul, Centro- Oeste do Brasil. A fazenda localiza-se dentro da sub-região de Porto
114 Murtinho, abaixo do encontro entre os rios Paraguai e Nabileque (Silva e Abdon, 1998).
115 Nesta região há predominância de vegetação chaquenha com ocorrência de alagamentos
116 anuais devido às chuvas e transbordamento dos rios (Silva e Abdon, 1998). Prado et al.
117 (1992) estudaram a presença de espécies chaquenhas nas diversas comunidades de
118 vegetação do sul do Pantanal e concluíram que o Chaco *sensu stricto* é bem menor do
119 que previamente se pensava, sendo representado somente pelas florestas de Porto
120 Murtinho, e que as demais áreas possuem apenas elementos do Chaco. O clima é do tipo
121 “Aw”, segundo a classificação de Köppen, com um período quente e chuvoso de
122 outubro a abril e um período frio e seco de maio a setembro.

123 Machos e fêmeas adultos de *L. bufonius* foram coletados através de busca ativa
124 no período noturno, entre setembro de 2009 e março de 2010. Os indivíduos foram
125 anestesiados e mortos com lidocaína 5%, fixados em formalina 10% e conservados em
126 solução de álcool 70%. Todos os espécimes foram depositados na Coleção Zoológica de
127 Referência da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (ZUFMS). Além dos
128 espécimes coletados durante este trabalho, espécimes pertencentes à ZUFMS, coletados
129 na mesma localidade, foram incluídos no presente estudo. Alguns destes espécimes
130 foram capturados em armadilhas de interceptação e queda nos anos de 2008 e 2009.

131 ***Esforço reprodutivo e relação de tamanho - fecundidade.*** A massa do corpo e das
132 gônadas foram obtidas com auxílio de uma balança Sartorius BL 120S de precisão
133 0,0001 g. Primeiramente obteve-se a massa do corpo de cada espécime e em seguida a
134 massa das gônadas. Tanto para os machos quanto para as fêmeas, somou-se a massa das
135 gônadas esquerda e direita para obtenção da massa total das gônadas. O esforço
136 reprodutivo (ER) foi obtido através da razão entre massa das gônadas e massa do corpo.

137 Mesmo não se tratando de uma medida direta do esforço reprodutivo, este método
138 permite estimá-lo e compará-lo a outros trabalhos já publicados (e.g., Prado e Haddad,
139 2005). Contamos o número de ovócitos maduros presentes nos ovários de 15 fêmeas e
140 medimos o maior e menor diâmetro de dez ovócitos de cada uma delas com auxílio de
141 um Estereomicroscópio Leica M205C com câmera digital Leica DFC420 acoplada. O
142 comprimento rostro-cloacal (CRC) foi obtido com paquímetro digital de precisão 0,01
143 mm.

144 **Análises estatísticas.** Uma vez que as gônadas podem variar em tamanho e massa ao
145 longo do ano (Prado et al., 2005), apenas espécimes coletados durante o período
146 reprodutivo foram incluídos nas análises.

147 As relações entre tamanho do corpo (CRC e massa) e características das gônadas
148 (ER, massa, número e diâmetro dos ovócitos) foram analisadas por regressão linear
149 simples (Zar, 1999). Antes de analisadas, as variáveis foram logaritimizadas para
150 cumprir premissas estatísticas e permitir interpretações biológicas e comparações diretas
151 entre trabalhos já publicados (King, 2000).

152 **Resultados**

153 **Esforço reprodutivo.** O valor médio da massa das gônadas dos machos de *L. bufonius*
154 foi de 0,055 g \pm 0,018 (amplitude = 0,023 – 0,104; N = 25) e das fêmeas foi de 1,013 g
155 \pm 0,683 (amplitude = 0,175 – 3,269; N = 31) (Tab.1). A média do ER dos machos foi de
156 0,49% \pm 0,12 (amplitude = 0,25-0,85; N = 25) e das fêmeas foi de 7,06% \pm 3,94
157 (amplitude = 1,17-18,79; N = 31; Tab. 1).

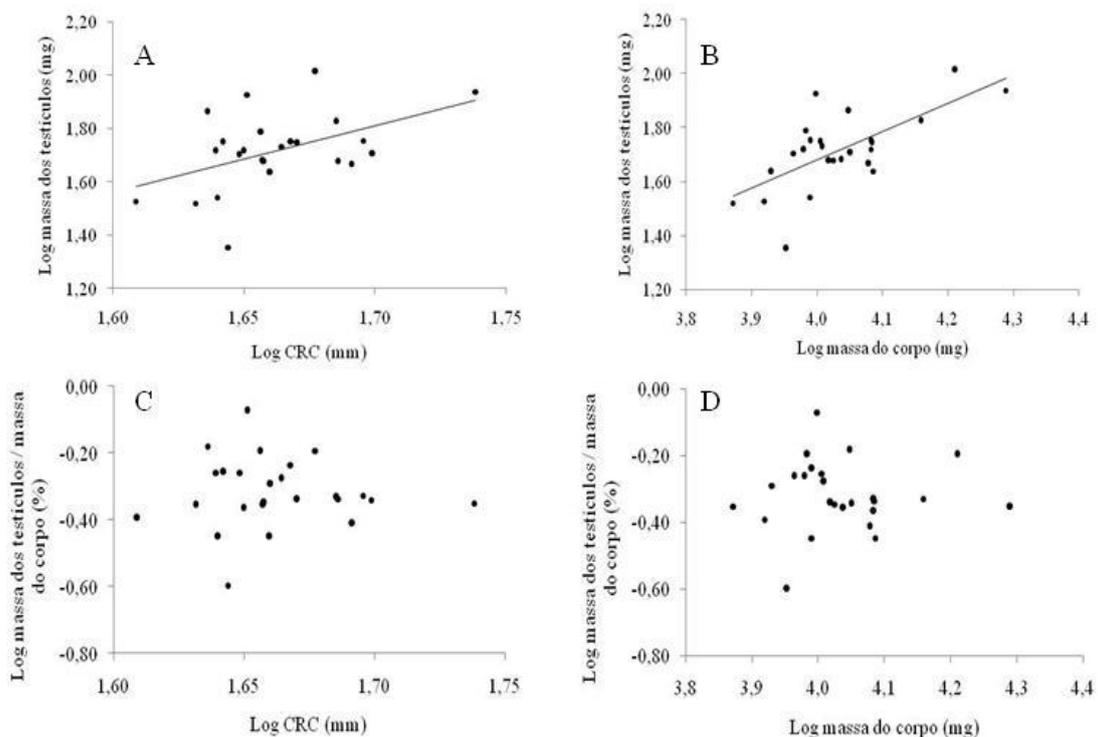
158

159 Tabela 1. Massa das gônadas (somatório das gônadas esquerda e direita) e esforço
 160 reprodutivo (ER: massa do corpo/massa das gônadas) de machos e fêmeas em nove
 161 espécies da família Leptodactylidae. Os valores são média \pm desvio padrão (N = número
 162 de indivíduos analisados). (a) Presente estudo; (b) Prado e Haddad (2003); (c) Prado e
 163 Haddad (2005).

Grupos e espécies	Massa das Gônadas (mg)		ER (%)	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Grupo de <i>L. latrans</i>				
<i>L. chaquensis</i>	1358,0 \pm 423,0 (21) ^b	5870,0 \pm 1720,0 (26) ^c	4,13 \pm 0,99 (21) ^b	16,0 \pm 2,9 (26) ^c
<i>L. macrosternum</i>	180,0 \pm 14,0 (2) ^b		0,11 \pm 0,02 (2) ^b	
<i>L. latrans</i>	130,0 \pm 19,0 (4) ^b		0,12 \pm 0,02 (4) ^b	
Grupo de <i>L. melanonotus</i>				
<i>L. podicipinus</i>	33,0 \pm 13,6 (20) ^b	1080,0 \pm 280,0 (10) ^c	0,75 \pm 0,26 (20) ^b	15,0 \pm 2,6 (10) ^c
Grupo de <i>L. pentadactylus</i>				
<i>L. labyrinthicus</i>	220,0 \pm 15,0 (3) ^b		0,04 \pm 0,01 (3) ^b	
Grupo de <i>L. fuscus</i>				
<i>L. bufonius</i>	54,5 \pm 17,9 (25)^a	1013,3 \pm 682,8 (31)^a	0,49 \pm 0,12 (25)^a	7,1 \pm 3,9 (31)^a
<i>L. fuscus</i>	5,0 \pm 1,8 (21) ^b	580,0 \pm 240,0 (8) ^c	0,06 \pm 0,02 (21) ^b	6,8 \pm 3,3 (8) ^c
<i>L. mystacinus</i>	9,4 \pm 1,2 (6) ^b		0,06 \pm 0,01 (6) ^b	
164 <i>L. notoaktites</i>	5,0 \pm 2,0 (5) ^b		0,04 \pm 0,02 (5) ^b	

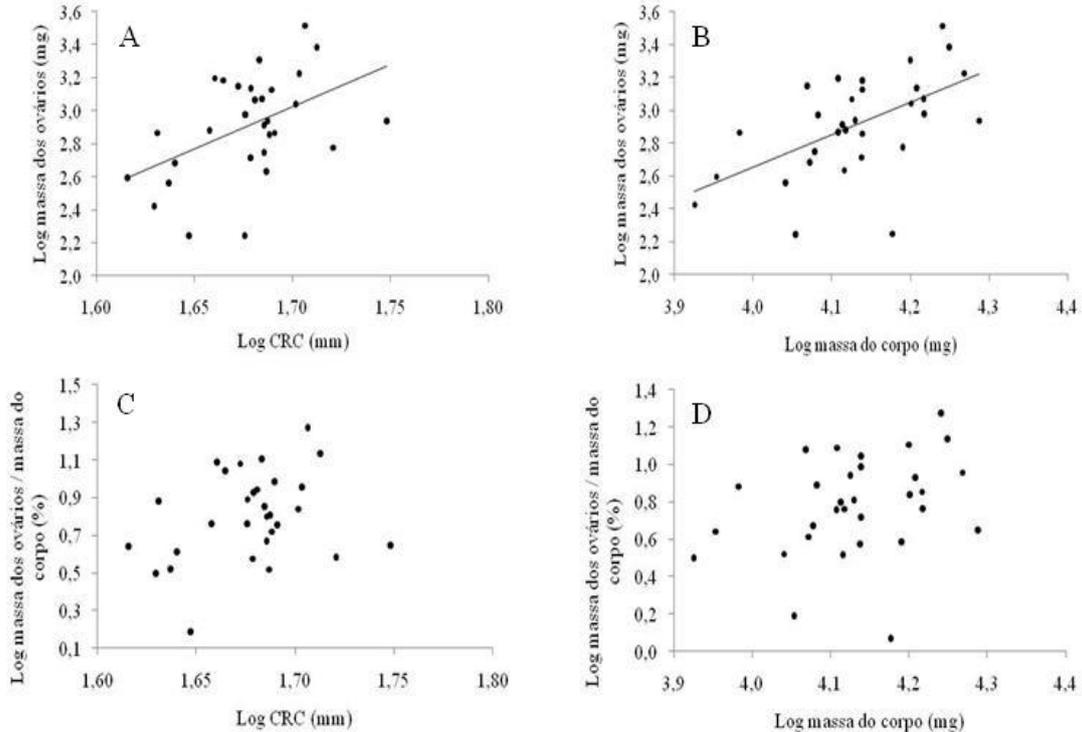
165 O CRC foi positivamente correlacionado com a massa das gônadas nos machos
 166 ($r^2 = 0,19$; $P = 0,02$; $N = 25$; Fig. 1A) e nas fêmeas ($r^2 = 0,22$; $P < 0,01$; $N = 31$; Fig.
 167 2A), mas a variação na massa das gônadas foi melhor explicada pela massa do corpo
 168 tanto nos machos ($r^2 = 0,43$; $P < 0,01$; $N = 25$; Fig. 1B), como nas fêmeas ($r^2 = 0,30$; $P <$
 169 $0,01$; $N = 31$; Fig. 2B). Não houve correlação entre ER e CRC nos machos ($r^2 < 0,01$; P
 170 $= 0,98$; $N = 25$; Fig. 1C). Quando as variáveis foram analisadas separadamente para
 171 cada estação, também não foi encontrada correlação para a estação de 2008/2009 ($r^2 <$
 172 $0,01$; $P = 0,51$; $N = 10$), e nem para a estação de 2009/2010 ($r^2 = 0,20$; $P = 0,06$; $N =$
 173 15). Não houve correlação entre ER e CRC nas fêmeas ($r^2 = 0,07$; $P = 0,15$; $N = 31$; Fig.

174 2C) e também não houve correlação quando essas variáveis foram analisadas
 175 separadamente para a estação de 2008/2009 ($r^2 < 0,01$; $P = 0,48$; $N = 15$) e 2009/2010
 176 ($r^2 < 0,01$; $P = 0,68$; $N = 16$). O ER dos machos não apresentou correlação com a massa
 177 do corpo ($r^2 < 0,01$; $P = 0,81$; $N = 25$; Fig. 1D), mesmo quando considerados apenas os
 178 machos da estação de 2008/2009 ($r^2 < 0,01$; $P = 0,87$; $N = 10$) ou apenas da estação
 179 2009/2010 ($r^2 = 0,04$; $P = 0,23$; $N = 15$). O ER das fêmeas também não foi
 180 correlacionado com a massa do corpo ($r^2 = 0,10$; $P = 0,08$; $N = 31$; Fig. 2D), mesmo
 181 quando as estações reprodutivas foram analisadas separadamente (2008/2009: $r^2 < 0,01$;
 182 $P = 0,58$; $N = 15$; 2009/2010: $r^2 = 0,10$; $P = 0,13$; $N = 16$).



183
 184 Figura 1. Relações entre (A) CRC e massa dos testículos ($\log y = - 2,44 + 2,50 \log x$),
 185 (B) massa do corpo e massa dos testículos ($\log y = - 2,53 + 1,05 \log x$), (C) CRC e
 186 esforço reprodutivo (massa das gônadas/massa do corpo) e (D) massa do corpo e

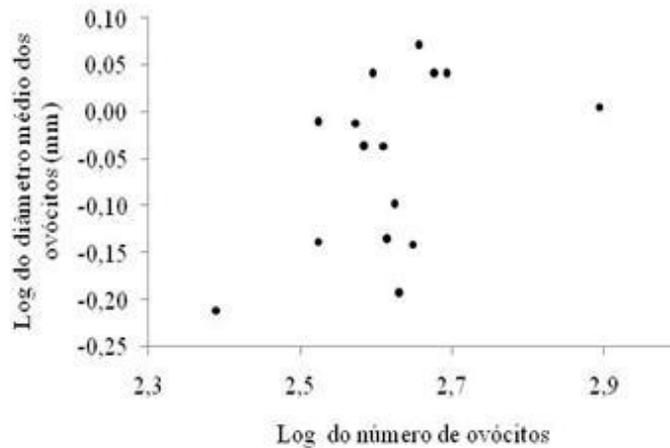
187 esforço reprodutivo em 25 machos de *Leptodactylus bufonius*, coletados em Porto
188 Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil, nos anos de 2008, 2009 e 2010.



189
190 Figura 2. Relações entre (A) CRC e massa dos ovários ($\log y = - 5,64 + 5,10 \log x$), (B)
191 massa do corpo e massa dos ovários ($\log y = - 5,27 + 1,98 \log x$), (C) CRC e esforço
192 reprodutivo (massa das gônadas/massa do corpo) e (D) massa do corpo e esforço
193 reprodutivo em 31 fêmeas da espécie *Leptodactylus bufonius*, coletados em Porto
194 Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil, nos anos de 2008, 2009 e 2010.

195 **Relações de tamanho-fecundidade.** O número médio de ovócitos por fêmea foi de
196 $425,1 \pm 116,9$ (amplitude = 245 – 783; N = 15). Uma vez que os ovócitos eram
197 arredondados e houve alta correlação positiva entre maior e menor diâmetro ($r^2 = 0,86$;
198 $P < 0,01$; N = 150), apenas o maior diâmetro foi utilizado nas análises de permuta entre
199 tamanho e número de ovócitos. O diâmetro médio dos ovócitos foi de $0,90 \text{ mm} \pm 0,22$

200 (amplitude = 0,30 – 1,34; N = 150). Não foi encontrada correlação entre número e
201 diâmetro dos ovócitos ($r^2 = 0,16$; $P = 0,08$; $N = 15$; Fig. 3).

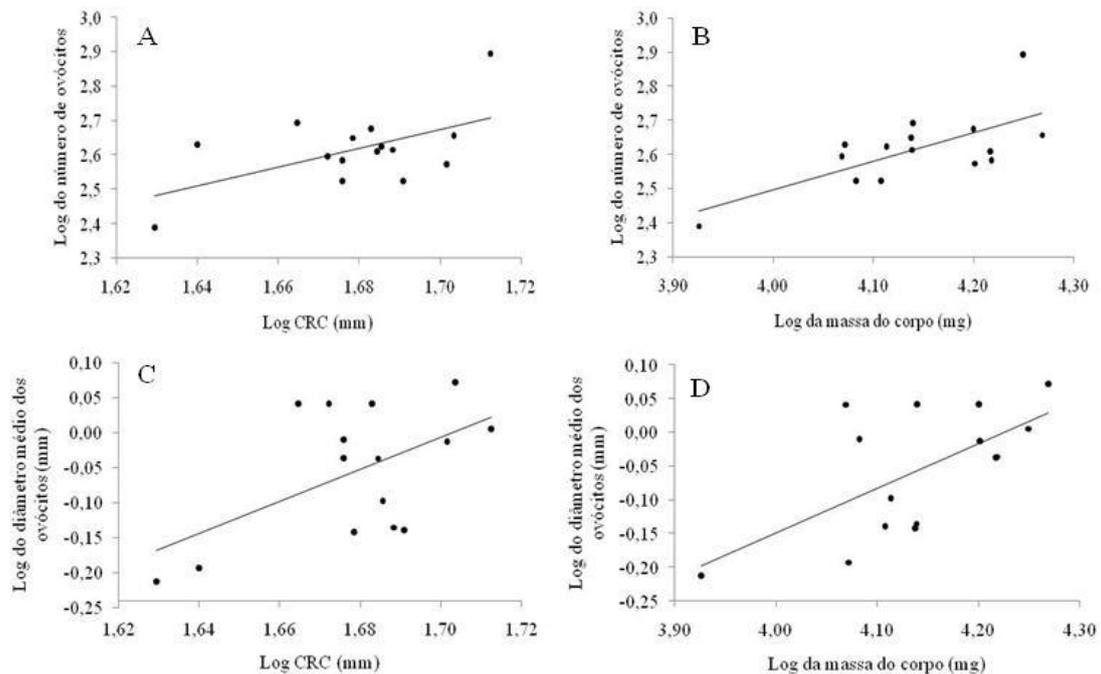


202

203 Figura 3. Relação entre o número de ovócitos e diâmetro médio dos ovócitos de 15
204 fêmeas de *Leptodactylus bufonius* de Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil.

205 Houve correlação positiva entre CRC e número de ovócitos ($r^2 = 0,26$; $P = 0,03$; $N = 15$;
206 Fig. 4A) e entre CRC e diâmetro dos ovócitos ($r^2 = 0,24$; $P = 0,04$; $N = 15$; Fig. 4C).

207 Houve correlação positiva entre massa do corpo e número de ovócitos ($r^2 = 0,43$; $P <$
208 $0,01$; $N = 15$; Fig. 4B) e entre massa do corpo e diâmetro dos ovócitos ($r^2 = 0,36$; $P =$
209 $0,01$; $N = 15$; Fig. 4D).



210

211 Figura 4. Relações entre (A) CRC e número de ovócitos ($\log y = - 1,97 + 2,73 \log x$),
 212 (B) massa do corpo e número de ovócitos ($\log y = - 0,84 + 0,83 \log x$), (C) CRC e
 213 diâmetro dos ovócitos ($\log y = - 3,88 + 2,28 \log x$) e (D) massa do corpo e diâmetro dos
 214 ovócitos ($\log y = - 2,80 + 0,66 \log x$) em 15 fêmeas de *Leptodactylus bufonius*, Porto
 215 Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil.

216 **Discussão**

217 **Esforço reprodutivo.** Em uma comparação entre oito espécies de leptodactilídeos,
 218 Prado e Haddad (2003) encontraram valores médios de massa dos testículos variando
 219 entre 5,0 para *L. notoaktites* e *L. fuscus*, ambas do grupo de *L. fuscus* e 1358 mg para *L.*
 220 *chaquensis* do grupo de *L. latrans*. No mesmo trabalho, a variação dentro do grupo de
 221 *L. fuscus* ficou entre 5,0 e 9,4 mg, sendo este último valor para *L. mystacinus* sendo
 222 quase seis vezes menor que o de *L. bufonius* (54,5 mg) encontrado no presente estudo.
 223 Da mesma forma, o ER dos machos de *L. bufonius* foi maior comparado a espécies do

224 grupo de *L. fuscus*; mais de oito vezes o valor descrito para *L. fuscus* e *L. mystacinus*
225 (Prado e Haddad, 2003; Tab. 1).

226 Os maiores valores conhecidos de ER para machos do gênero *Leptodactylus* são os de
227 *L. chaquensis* e *L. podicipinus* (4,13 e 0,75, respectivamente), espécies em que já foram
228 observados comportamentos de poliandria, envolvendo a participação de uma fêmea e
229 pelo menos dois machos (Prado e Haddad, 2003).

230 Na maioria das espécies de anuros, um único macho realiza o amplexo e fecunda
231 os ovócitos da fêmea, mas casos de poliandria têm sido relatados na literatura (e.g.,
232 Kusano et al., 1991; Prado e Haddad, 2003; Prado et al., 2006). Estudos anteriores com
233 a espécie *L. bufonius* (Philibosian et al., 1974; Reading e Jofré, 2003) já relataram a
234 presença de mais de um macho dentro da toca com apenas uma fêmea. Philibosian et al.
235 (1974) sugeriram que *L. bufonius* poderia apresentar poliandria ou que machos
236 poderiam utilizar tocas construídas por outro machos. O segundo cenário pareceu o
237 mais adequado para a população estudada por Reading e Jofré (2003) na Argentina, uma
238 vez que não houve indícios que apoiassem a primeira sugestão. Todavia, Faggioni et al.
239 (no prelo; anexo 1) também observaram, em duas ocasiões, dois machos e uma fêmea
240 de *L. bufonius* dentro de uma toca durante e após o processo de desova e sugeriram
241 haver indícios de poliandria na população estudada.

242 Machos de espécies com fecundação externa, como a maioria dos anuros,
243 possuem apenas uma maneira de aumentar a chance de sucesso na fecundação: (1)
244 aumentar o número de espermatozóides liberados e (2) manter-se próximo à fêmea que
245 está desovando (Gross, 1985; Jennions e Passmore, 1993). Dessa forma, em espécies
246 poliândricas deve haver forte seleção para o aumento na produção de espermatozóides e
247 assim, do tamanho dos testículos (Jennions e Passmore, 1993). A presença de mais de

248 um macho próximo a uma fêmea no momento da desova, assim como testículos maiores
249 do que o observado em espécies filogeneticamente próximas, são características
250 comumente associadas às espécies de anuros poliândricas (Kusano et al., 1991; Jennions
251 e Passmore, 1993). Embora trabalhos relatando casos de poliandria sejam cada vez mais
252 comuns para anuros, poucos trabalhos apresentam provas genéticas da fecundação dos
253 ovócitos por mais de um macho (e.g., D'Orgeix e Turner, 1995; Roberts et al., 1999),
254 sendo principalmente as características indiretas utilizadas como indicadoras de tal
255 comportamento (Byrne et al., 2002). Nossos resultados, elevados valores da massa dos
256 testículos e ER, se comparados a espécies filogeneticamente próximas, e a observação
257 de dois machos na toca com uma única fêmea, reforçam a possibilidade de ocorrência
258 de poliandria em *L. bufonius*.

259 Conspicuidade do casal e do ninho, tempo de formação do ninho de espuma,
260 razão sexual desviada para os machos e possibilidade de fertilização dos ovócitos por
261 espermatozóides retidos no ninho de espuma são fatores sugeridos como importantes
262 para a ocorrência de poliandria em anuros, selecionando indivíduos com elevados
263 valores de ER (Kusano et al., 1991; Jennions e Passmore, 1993; Prado e Haddad, 2003).
264 Em um estudo realizado na África do Sul, com 18 espécies de anuros, *Chiromantis*
265 *xerampelina*, espécie poliândrica que deposita ninhos de espuma em galhos de árvores
266 sobre a água, apresentou o maior valor de ER, com média de 7,8% (Jennions e
267 Passmore, 1993). Porém, a poliandria foi também descrita para espécies que depositam
268 ninho de espuma em locais mais protegidos, tais como *L. podicipinus* (Prado e Haddad,
269 2003) e o racoforídeo *Rhacophorus schlegelii* (Fukuyama, 1991). Os valores de ER são
270 bem menores para estas espécies (0,75 e 1%, respectivamente; Fukuyama, 1991; Prado
271 e Haddad, 2003), talvez pelo fato do espaço limitado para a participação de outros

272 machos e pela baixa probabilidade de um macho oportunista localizar o casal em
273 amplexo (Kusano et al., 1991; Prado e Haddad, 2003).

274 *Leptodactylus bufonius*, assim como as demais espécies do grupo de *L. fuscus*,
275 depositam ninhos de espuma no interior de tocas (Heyer, 1969). Devido a esta
276 característica, acreditava-se que baixos valores de ER dos machos seja um padrão para
277 este grupo (Prado e Haddad, 2003). Apesar disso, os resultados do presente estudo
278 indicam que pode haver competição espermática em *L. bufonius* mesmo com a desova
279 protegida, assim como descrito para *L. podicipinus* e *R. schlegelii*.

280 A massa das gônadas das fêmeas de *L. bufonius* foi maior do que a de *L. fuscus* e
281 menor do que a de *L. chaquensis* e *L. podicipinus* (ver Prado e Haddad, 2005). O ER
282 também foi menor do que o descrito para *L. chaquensis* e *L. podicipinus*, porém
283 próximo ao de *L. fuscus*. Em um estudo realizado no Equador, Crump (1974) observou
284 relação inversa entre tamanho do corpo e ER em fêmeas de 23 espécies de anuros.
285 Estudos posteriores na Argentina (Perotti, 1997) e Brasil (Prado e Haddad, 2005)
286 também encontraram o mesmo padrão. Prado e Haddad (2005) ainda ressaltaram que *L.*
287 *fuscus* apresentou ER menor do que o esperado e atribuíram a diferenças ecológicas, tais
288 como padrão prolongado de reprodução e número de vezes que uma fêmea é capaz de
289 desovar em uma estação reprodutiva. Essas explicações podem ser aplicadas para os
290 resultados encontrados neste estudo.

291 O padrão reprodutivo pode influenciar o ER nas fêmeas de anuros.
292 *Leptodactylus chaquensis* é uma espécie explosiva, que se reproduz apenas durante as
293 primeiras chuvas do ano no Pantanal (Prado et al., 2000). Desta forma, fêmeas desta
294 espécie podem não ter chance de desovar diversas vezes e assim o esforço reprodutivo é
295 alto e concentrado em apenas um pequeno período de tempo (Prado e Haddad, 2005).

296 Fêmeas de algumas espécies de anuros neotropicais são capazes de desovar mais de
297 uma vez durante a estação reprodutiva, mas precisam de intervalos de pelo menos duas
298 semanas entre as desovas (Bastos e Haddad, 1996). Em estudo realizado na Argentina,
299 Reading e Jofré (2003) não encontraram diferença significativa entre o número de
300 ovócitos no ovário e o número de ovócitos nas desovas, sugerindo que as fêmeas de *L.*
301 *bufonius* desovavam todos os ovócitos de uma só vez. Tal diferença foi encontrada em
302 *L. troglodytes* em um estudo realizado em área de Cerrado no Brasil (Kokubum et al.,
303 2009). Talvez, as fêmeas da população de *L. bufonius* estudada sejam capazes de
304 desovar mais de uma vez ao longo da estação chuvosa, o que explicaria os baixos
305 valores de ER se comparados a *L. chaquensis*, mas estudos que investiguem esses
306 padrões são necessários para esclarecer tais diferenças.

307 A variação na massa das gônadas foi positivamente correlacionada com a massa
308 do corpo e com o CRC, embora a massa do corpo tenha apresentado maior correlação
309 em ambos os sexos. A massa do corpo das fêmeas explicou a maior parte da variação na
310 massa das gônadas em estudos envolvendo tanto leptodactilídeos (e. g., Prado e
311 Haddad, 2005) como espécies pertencentes a outras famílias de anuros (e.g., Crump,
312 1974; Rodrigues et al., 2007; Pupin et al., 2010). Os resultados aqui descritos vão de
313 acordo as conclusões dos trabalhos citados acima, onde a massa do corpo é a variável
314 mais adequada para predição do potencial reprodutivo das fêmeas, uma vez que
315 representa melhor a variação do volume da cavidade abdominal (King, 2000; Prado e
316 Haddad, 2005), assim como a condição nutricional do indivíduo (Prado e Haddad, 2005;
317 Pupin et al., 2010). A variação intra-específica no esforço reprodutivo é geralmente
318 explicada pelas condições ambientais tais como altitude, temperatura, precipitação e
319 disponibilidade de recursos no ambiente, e características das fêmeas como, por

320 exemplo, a capacidade de utilizar a energia assimilada para a formação de ovócitos
321 (e.g., Luddecke, 2002; Reading e Jofré, 2003; Castellano et al., 2004). Tanto as fêmeas
322 como os machos da população estudada não apresentaram correlação entre CRC ou
323 massa do corpo e ER. Isso pode ser explicado porque a população estudada forrageava
324 nos cupinzeiros, que são abundantes, indicando que mesmo fêmeas menores investem
325 em crescimento e reprodução, simultaneamente.

326 Embora as análises realizadas separadamente para as estações de 2008/2009 e
327 2009/2010 não tenham apresentado resultados diferentes das análises realizadas
328 juntando os dados das duas estações reprodutivas, trabalhos com outras espécies de
329 anuros já demonstraram a existência de diferenças interanuais em características
330 reprodutivas (e.g., Tomašević et al., 2007; Tomašević et al., 2008). Fatores climáticos
331 tais como temperatura e umidade, podem afetar diretamente a disponibilidade de
332 alimento e conseqüentemente as características reprodutivas em indivíduos de anos ou
333 locais diferentes (Reading e Jofré, 2003; Tomašević et al., 2008).

334 **Relações de tamanho-fecundidade.** Reading e Jofré (2003) estudaram a reprodução de
335 *L. bufonius* na Argentina. A média de ovócitos por fêmea foi de 474 e 643 em 2000 e
336 2001, respectivamente, ambas maiores que a média de 425 encontrada no presente
337 estudo. As fêmeas da população estudada na Argentina eram maiores do que as do
338 presente estudo, o que poderia explicar a maior quantidade de ovócitos por fêmea.

339 Espécies que apresentam modo reprodutivo mais generalizado (desovas na água
340 e girinos aquáticos) tendem a produzir desovas com muitos ovos pequenos, porém essa
341 relação tende a mudar conforme o modo reprodutivo torna-se mais independente da
342 água, passando a conter menos ovos, porém de maior tamanho (Salthe e Duellman,
343 1973; Crump, 1974; Perotti, 1997). O grupo de *L. fuscus* é considerado intermediário

344 em relação ao modo reprodutivo, apresentando desovas terrestres e girinos aquáticos
345 (Heyer, 1969). O número de ovócitos encontrados em *L. bufonius* foi menor do que o
346 descrito para *L. chaquensis*, *L. podicipinus* (Prado e Haddad, 2005) e *L. syphax* (Silva e
347 Giaretta, 2009), espécies pertencentes a grupos que apresentam modos reprodutivos
348 mais dependentes da água (Heyer, 1969; Prado et al., 2002). Espécies do grupo de *L.*
349 *marmoratus* apresentam modo reprodutivo mais independente da água se comparadas as
350 do grupo de *L. fuscus* e, como esperado, diversos estudos observaram poucos ovócitos
351 grandes em fêmeas desse grupo (e.g., Crump, 1974; Almeida e Angulo, 2002; Kokubum
352 e Giaretta, 2005). O diâmetro médio dos ovócitos de *L. bufonius* foi menor do que o
353 registrado para outras espécies do grupo de *L. fuscus* (e.g., Oliveira-Filho e Giaretta,
354 2008; Kokubum et al., 2009). Se comparada a outras espécies do grupo de *L. fuscus*, *L.*
355 *bufonius* apresentou resultado esperado, já que continha mais ovócitos no ovário do que
356 *L. fuscus* (Prado e Haddad, 2005), *L. mystacinus* (Silva e Giaretta, 2009) e *L.*
357 *troglydytes* (Kokubum et al. 2009), porém de menor diâmetro comparado ao destas
358 espécies.

359 Em anuros, de maneira geral, há correlação positiva entre tamanho do corpo e
360 número e tamanho de ovos/ovócitos (e.g., Martins, 1988; Prado e Uetanabaro 2000;
361 Wogel et al., 2002; Pupin et al., 2010). Além disso, alguns trabalhos demonstram haver
362 correlação negativa entre número e tamanho dos ovócitos (e.g., Luddecke, 2002; Lips,
363 2001; Pupin et al., 2010). *Leptodactylus bufonius* seguiu o padrão de correlação positiva
364 entre CRC ou massa do corpo e número e tamanho dos ovócitos. Da mesma forma que a
365 massa do corpo explicou melhor a variação na massa das gônadas se comparado ao
366 CRC, a massa do corpo também explicou melhor a variação no número e tamanho dos
367 ovócitos. Conforme as fêmeas crescem em comprimento e em massa, tornam-se capazes

368 de produzir ovócitos maiores e em maior número. A falta de correlação positiva entre
369 número e diâmetro dos ovócitos pode estar relacionada a possível inclusão de ovócitos
370 não maduros nas análises.

371 Diante do valor do ER dos machos e dos dados de comportamento aqui
372 relatados, nossos resultados apontam para uma possível ocorrência de competição
373 espermiática em *L. bufonius*. Futuros trabalhos de comportamento reprodutivo aliados à
374 análise de paternidade poderão comprovar a ocorrência de poliandria na espécie. Em
375 relação às fêmeas de *L. bufonius*, houve correlação positiva entre tamanho do corpo e
376 massa das gônadas, além disso, como em outras espécies de anuros (e.g., *Bufo viridis*:
377 Castellano et al., 2004; *Crinia signifera*: Lauck, 2005), conforme as fêmeas de *L.*
378 *bufonius* ficam maiores e mais pesadas, a quantidade e tamanho dos ovócitos
379 aumentam. Porém, o ER em fêmeas não foi correlacionado com o tamanho do corpo,
380 assim como não observamos um *trade-off* entre número e tamanho dos ovócitos. As
381 condições ambientais na área de estudo, com secas extremamente prolongadas e
382 ambientes de reprodução efêmeros, podem exercer um efeito sobre tais características
383 reprodutivas. Apenas estudos comparativos de médio a longo prazo poderão elucidar os
384 efeitos das condições ambientais sobre o investimento reprodutivo em anuros.

385 **Agradecimentos.**

386 Os autores agradecem a Oswaldo Ovelar (Seu Bala), que gentilmente abriu as portas de
387 sua fazenda para que este trabalho fosse realizado. Ao Seu Alberto e Dona Paula pela
388 hospitalidade e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico,
389 CNPq, pela bolsa de estudo.

390

391

392 **Literatura citada**

393 Almeida, A. P. e Angulo, A. 2002. *Adenomera* aff. *marmorata* (NCN): reproduction.
394 Herpetological Review 33:197 – 198.

395 Bastos, R. P. e Haddad, C. F. B. 1996. Breeding activity of the Neotropical tree frog
396 *Hyla elegans* (Anura, Hylidae). Journal of Herpetology 30:355 – 360.

397 Byrne, P. G., Roberts, J. D. e Simmons, L. W. 2002. Sperm competition selects for
398 increased testis mass in Australian frogs. Journal of Evolutionary Biology
399 15:347 – 355.

400 Castellano, S., Cucco, M. e Giacoma, C. 2004. Reproductive investment of female
401 Green toads (*Bufo viridis*). Copeia 3:659 – 664.

402 Crump, M. L. 1974. Reproductive strategies in a tropical anuran community.
403 Miscellaneous Publication of the Museum of Natural History 61:1 – 68.

404 Crump, M. L. 1995. *Leptodactylus bufonius* (NCN): reproduction. Herpetological
405 Review 26:97 – 98.

406 D'Orgeix, C. A. e Turner, B. J. 1995. Multiple paternity in the red-eyed treefrog
407 *Agalychnis callidryas* (Cope). Molecular Ecology 4:505 – 508.

408 Downie, J. R. e Smith, J. 2003. Survival of larval *Leptodactylus fuscus* (Anura:
409 Leptodactylidae) out of water: developmental differences and interspecific
410 comparisons. Journal of Herpetology 37:107 – 115.

411 Duellman, W. E. e Trueb, L. 1994. Biology of Amphibians. McGraw-Hill, New York.

- 412 Duellman, W. E. 1985. Reproductive modes in anuran amphibians: phylogenetic
413 significance of adaptive strategies. South African Journal of Science 81:174 –
414 178.
- 415 Duellman, W. E. 1992. Estrategias reproductoras de las ranas. Scientific American
416 192:54 – 62.
- 417 Faggioni, G. P., Prado, C. P. A., Souza, F. L., Uetanabaro, M. e Filho, P. L. no prelo.
418 *Leptodactylus bufonius* (vizcacheras' white-lipped frog): spawning behavior.
419 Herpetological Review 42:xx – xx.
- 420 Frost, D. R. 2010. Amphibians species of the world: an online reference, version 5.4 (8
421 April, 2010). Electronic data base accessible at
422 <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>. American Museum of
423 Natural History, New York, USA.
- 424 Fukuyama, K. 1991. Spawning behaviour and male mating tactics of a foam-nesting
425 treefrog, *Rhacophorus schlegelii*. Animal Behaviour 42:193 – 199.
- 426 Gadgil, M. e Bossert, W. H. 1970. Life historical consequences of natural selection. The
427 American Naturalist 104:1 – 24.
- 428 Giaretta, A. A. e Kokubum, M. N. C. 2003. Reproductive ecology of *Leptodactylus*
429 *furnarius* Sazima & Bokermann, 1978, a frog that lays eggs in underground
430 chambers (Anura, Leptodactylidae). Herpetozoa 16:115 – 126.
- 431 Gross, M. R. 1985. Disruptive selection for alternative life history in salmon. Nature
432 313:47 – 48.
- 433 Heyer, W. R. 1969. The adaptive ecology of the species groups of the genus
434 *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Evolution 23:421 – 428.

- 435 Jennions, M. D. e Passmore, N. I. 1993. Sperm competition in frogs: testis size and a
436 'sterile male' experiment on *Chiromantis xerampelina* (Rhacophoridae).
437 Biological Journal of the Linnean Society 50:211 – 220.
- 438 King, R. B. 2000. Analyzing the relationship between clutch size and female body size
439 in reptiles. Journal of Herpetology 34:148 – 150.
- 440 Kokubum, M. N. C. e Giaretta, A. A. 2005. Reproductive ecology and behaviour of a
441 species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylinae) with endotrophic tadpoles:
442 systematics implications. Journal of Natural History 39:1745 – 1748.
- 443 Kokubum, M. N. C., Maciel, N. M., Matsushita, R. H., Queiróz-Júnior, A. T. e Sebben,
444 A. 2009. Reproductive biology of the Brazilian sibilator frog *Leptodactylus*
445 *trogodytes*. Herpetological Journal 19:119 – 126.
- 446 Kusano, T., Toda, M. e Fukuyama, K. 1991. Testis size and breeding system in
447 Japanese anurans with special reference to large testes size in the tree frog
448 *Rhacophorus arboreus*. Behavioral Ecology and Sociobiology 29:27 – 31.
- 449 Lauck, B. 2005. Life history of the frog *Crinia signifera* in Tasmania, Australia.
450 Australian Journal of Zoology 53:21 – 27.
- 451 Lips, K. R. 2001. Reproductive trade-offs and bet-hedging in *Hyla calypso*, a
452 Neotropical treefrog. Oecologia 128:509 – 518.
- 453 Luddecke, H. 2002. Variation and trade-off in reproductive output of the Andean frog
454 *Hyla labialis*. Oecologia 130:403 – 410.
- 455 Maragno, F. P. e Cechin, S. Z. 2009. Reproductive biology of *Leptodactylus fuscus*
456 (Anura, Leptodactylidae) in the subtropical climate, Rio Grande do Sul, Brazil.
457 Iheringia, Série Zoologia 99:237 – 241.

- 458 Martins, M. 1988. Biologia Reprodutiva de *Leptodactylus fuscus* em Boa Vista,
459 Roraima (Amphibia: Anura). Revista Brasileira de Biologia 48:969 – 977.
- 460 Oliveira-Filho, J. C. e Giaretta, A. A. 2008. Reproductive behavior of *Leptodactylus*
461 *mystacinus* (Anura, Leptodactylidae) with notes on courtship call of other
462 *Leptodactylus* species. Iheringia, Série Zoologia. 98:508 – 515.
- 463 Perotti, M. G. 1997. Reproductive modes and quantitative reproductive parameters of an
464 anuran assemblage from the semiarid Chaco, Salta, Argentina. Revista Chilena
465 de História Natural 70: 277 – 288.
- 466 Philibosian, R., Ruibal, R., Shoemaker, V. H. e McClanahan, L. L. 1974. Nesting
467 behaviour and early larval life of the frog *Leptodactylus bufonius*. Herpetologica
468 30:381 – 386.
- 469 Prado, C. P. A. e Haddad, C. F. B. 2003. Testes size in leptodactylid frogs and
470 occurrence of multimale spawning in the genus *Leptodactylus* in Brazil. Journal
471 of Herpetology 37:354 – 362.
- 472 Prado, C. P. A. e Haddad, C. F. B. 2005. Size-fecundity relationships and reproductive
473 investment in female frogs in the Pantanal, south-western Brazil. Herpetological
474 Journal 15:181 – 189.
- 475 Prado, C. P. A. e Uetanabaro, M. 2000. Reproductive biology of *Lysapsus limellus*
476 Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) in the Pantanal, Brazil. Zoocriaderos 3:25 – 30.
- 477 Prado, C. P. A., Toledo, L. F., Woehl Jr., G. e Castanho, L. M. 2006. *Phyllomedusa*
478 *distincta*: multimale spawning. Herpetological Review 37:206 – 207.
- 479 Prado, C. P. A., Uetanabaro, M. e Haddad, C. F. B. 2002. Description of a new
480 reproductive mode in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with a review of

- 481 the reproductive specialization toward terrestriality in the genus. *Copeia* 4:1128
482 – 1133.
- 483 Prado, C. P. A., Uetanabaro, M. e Haddad, C. F. B. 2005. Breeding activity patterns,
484 reproductive modes, and habitat use by anurans (Amphibia) in a seasonal
485 environment in the Pantanal, Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26:211 – 221.
- 486 Prado, C. P. A., Uetanabaro, M. e Lopes, F. S. 2000. Reproductive strategies of
487 *Leptodactylus chaquensis* and *L. podicipinus* in the Pantanal, Brazil. *Journal of*
488 *Herpetology* 34:135 – 139.
- 489 Prado, D. E., Gibbs, P. E., Pott, A e Pott, V. J. 1992. The chaco-transition in southern
490 Mato-Grosso, Brazil. Em P. A. Furley, J. Proctor e J. A. Ratter (eds.), *Nature*
491 *and Dynamics of Forest-Savanna Boundaries*, pp. 451 – 470. Chapman & Hall,
492 London, England.
- 493 Pupin, N. C., Gasparini, J. L., Bastos, R. P., Haddad, C. F. B. e Prado, C. P. A. 2010.
494 Reproductive biology of an endemic *Physalaemus* of the Brazilian Atlantic
495 forest, and the trade-off between clutch size and egg size in terrestrial breeders
496 of the *P. signifer* group. *Herpetological Journal* 20:147 – 156.
- 497 Reading, C. J. e Jofré, G. M. 2003. Reproduction in the nest building vizcacheras frog
498 *Leptodactylus bufonius* in central Argentina. *Amphibia-Reptilia* 24:415 – 427.
- 499 Reznick, D. 1992. Measuring the costs of reproduction. *Trends in Ecology and*
500 *Evolution* 7:42 – 45.
- 501 Roberts, J. D., Standish, R. J., Byrne, P. G. e Doughty, P. 1999. Synchronous polyandry
502 and multiple paternity in the frog *Crinia georgiana* (Anura: Myobatrachidae).
503 *Animal Behavior* 57:721 – 726.

- 504 Rodrigues, D. J. 2007. Breeding biology of *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 and *P.*
505 *sauvagii* Boulenger, 1882 (Anura) from the Cerrado, Central Brazil. Journal of
506 Natural History 41: 1841– 1851.
- 507 Roff, D. A. e Fairbairn, D. J. 2007. The evolution of trade-offs: where are we? Journal
508 of Evolutionary Biology 20:433 – 477.
- 509 Ryan, M. J. 1992. Costs of reproduction. Em M. E. Feder e W. W. Burggren (eds.),
510 Environmental physiology of amphibians, pp. 426 – 434. The University of
511 Chicago Press.
- 512 Salthe, S. N. e Duellman, W. E. 1973. Quantitative constraints associated with
513 reproductive mode in anurans. Em J. L. Vial (ed.), Evolutionary Biology of the
514 Anurans: Contemporary Research on Major Problems, pp. 229 – 248.
515 Columbia: University of Missouri Press.
- 516 Silva, J. S. V. e Abdon, M. M. 1998. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-
517 regiões. Pesquisa Agropecuária Brasileira 33:1703 – 1711.
- 518 Silva, W. R. e Giaretta, A. A. 2009. On the natural history of *Leptodactylus siphax* with
519 comments on the evolution of reproductive features in the *L. pentadactylus*
520 species group (Anura, Leptodactylidae). Journal of Natural History. 43:191 –
521 203.
- 522 Stearns, S. C. 1989. Trade-offs in life-history evolution. Functional Ecology 3:259 –
523 268.
- 524 Tomašević, N., Cvetković, D., Aleksić, I. e Crnobrnja-Isailović, J. 2007. The effect of
525 climatic conditions on post-hibernation body condition and reproductive traits of
526 *Bufo bufo* females. Archives of Biological Science, Belgrade 59:51 – 52.

- 527 Tomašević, N., Cvetković, D., Miaud, C., Aleksić, I. & Crnobrnja-Isailović, J. 2008.
528 Interannual variation in life history traits between neighbouring populations of
529 the widespread amphibian *Bufo bufo*. *Revue d'Ecologie (la Terre et la Vie)*
530 63:371 – 381.
- 531 Wogel, H., Abrunhosa, P. A. e Pombal Jr., J. P. 2002. Breeding activity of *Physalaemus*
532 *signifer* (Anura, Leptodactylidae) in a temporary pond. *Iheringia, Série Zoologia*
533 92:57 – 70.
- 534 Zar, J. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey.
535

ANEXO

***LEPTODACTYLUS BUFONIUS* (Vizcacheras' White-lipped Frog). SPAWNING BEHAVIOR.**

Leptodactylus bufonius is a typical frog from the arid Chaco, included in the *Leptodactylus fuscus* group (Heyer 1978. Bull. Los Angeles Co. Mus. Nat. Hist. 29: 85 pp.). It occurs in south Bolivia, north Argentina, Paraguay and Central Brazil (Mato Grosso do Sul state) (Frost 2010. Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/American Museum of Natural History, New York, USA>). The species in this group exhibit an intermediate reproductive mode, from the aquatic to more terrestrial ones, with terrestrial clutches and aquatic tadpoles. Males construct subterranean chambers close to streams or ponds and eggs embedded in foam nests are deposited inside the chambers; subsequent to rains or floodings, tadpoles complete development in the water (Heyer 1969. Evolution 23:421–428). Studies on the reproductive biology of *L. bufonius* throughout its geographic distribution are scarce (Crump 1995. Herpetol. Rev. 26:97–98; Reading and Jofré 2003. Amphibia-Reptilia 24:415–427) and nonexistent for Brazilian populations. Herein, we describe some aspects of the spawning behavior of *L. bufonius* in a temporary pond (21°42'S, 57°43'W), in the municipality of Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul state, western Brazil. The study site is located in the south Pantanal, the only Brazilian region under the influence of the Chaco biome, where annual floodings are common in the summer (Prado et al. 1992. In: P. A. Furley, J. Proctor and J. A. Ratter (eds.), Nature and dynamics of forest-savanna boundaries, pp. 451–470. Chapman & Hall, London, England; Silva and Abdon 1998. Pesq. Agropec. Bras. 33:1703–1711). Climate is “Aw” type, according to Köppen’s classification, with a hot

and wet summer (Oct–Apr) and a dry and cold winter (May–Sep). On 3 December 2009, 2230 h, we observed a pair of *L. bufonius* in amplexus inside a chamber, but spawning had not started yet. At 2232 h, another male entered in the same chamber and immediately they started spawning. At 2300 h, with the foam nest already formed, the female (Coleção Zoológica de Referência da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – ZUFMS -CH593) left the chamber. Both males remained inside the chamber until 2344 h, when one of the males left the chamber (ZUFMS–CH594), followed by the other male at 2355 h (ZUFMS–CH595). On 6 December 2009, at night, we observed another male being followed by the female and both entered the chamber at 2120 h. After five minutes, the male left the chamber and remained motionless for 35 minutes at about 10 cm from the chamber entrance. During this period, the female remained with her head out of the chamber. At 2205 h, both returned to the chamber and amplexed. After 20 minutes they started spawning. At 2245 h, another female (ZUFMS–CH598) approached the chamber and, at 2307 h, joined the pair that was spawning. After seven minutes, this second female left. Thirty minutes later, another male approached and entered in the chamber. The three individuals (two males and one female) remained inside the chamber for almost 40 minutes (until 0028 h), when the female left. At 0047 h one male (ZUFMS–CH599) left and at 0100 h the other male (ZUFMS–CH600) also left the chamber. We were able to recognize males and females because of the presence/absence of vocal sacs and observation of all behaviors were possible through the chamber entrance. Observations of chambers containing more than a male and female were already reported for *L. bufonius* (Philibosian et al. 1974. *Herpetologica* 30:381–386; Pisanó et al. 1993. *Rev. Fr. Aquariol.* 19:125–126; Reading and Jofré 2003. *Amphibia-Reptilia* 24:415–427). Philibosian et al. (1974. *Herpetologica* 30:381–

386) suggested that or *L. bufonius* may exhibit polyandrous behavior or males may use chambers of other males. The second scenario seemed more plausible for the population studied in Argentina by Reading & Jofré (2003. *Amphibia-Reptilia* 24:415–427). These authors stated that the evidences did not support the occurrence of polyandry. Given that *L. bufonius* individuals occur in high densities at our study site, and that the region is subjected to floodings, which may shorten the reproductive period because of lack of suitable sites to construct the chambers, we suggest that the occurrence of multimale and, maybe, also multifemale spawning behavior seems plausible for this population. Polyandry has been rarely reported for South American frogs (e.g., Prado and Haddad 2003. *J. Herpetol.* 37:354–362; Prado et al. 2006. *Herpetol. Rev.* 37:206–207). In species with external fertilization, as most anurans, one of the ways to increase fertilization success is increasing quantity of sperm released (Gross 1985. *Nature* 313:47–48). Thus, selection may favor males with larger testes (Prado and Haddad 2003. *J. Herpetol.* 37:354–362). Studies on the reproductive effort (gonad mass relative to body mass) of *L. bufonius* males, as well as studies addressing the offspring paternity are needed to elucidate the behaviors herein described.

The authors are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq (proc. # 470484/2007–1), for financial support and to Oswaldo Ovelar (Seu Bala), who permitted access to the farm. F.L. Souza receives research grant from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq (proc. 306034/2008–5). C.P.A. Prado acknowledges FAPESP (proc. # 2009/12013–4) and PROPE/UNESP.

Submitted by **GABRIEL P. FAGGIONI**, Pós-graduação em Ecologia e Conservação, Caixa Postal 549, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil, e-mail: faggioni@hotmail.com; **CYNTHIA P. A. PRADO**, Universidade Estadual Paulista, FCAV, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brazil; **FRANCO L. SOUZA**, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil; **MASAO UETANABARO**, Rua Clóvis, 24, 79022-071, Campo Grande, MS, Brazil; **PAULO LANDGREF FILHO**, Rua Cadete João, 55, 79044-370, Campo Grande, MS, Brasil.