

Universidade Estadual de Campinas



Cláudio Eduardo Germano Patto

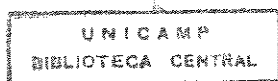
**Ecologia Populacional de Hylodes asper
(Anura: Leptodactylidae: Hylodinae):
dinâmica e aspectos alimentares**

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato(a) <i>Cláudio Eduardo Germano Patto</i> e aprovada pela Comissão Julgadora. <i>12/8/99</i>

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de Ecologia.

Orientador: Dr. João Vasconcellos Neto

1999



CHAMADA:	
Ex.	
0000 80/	28164
000	229199
C	☐
D	☒
000	0511,00
ATA	25110199
* CPD	

CM-00136298-2

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA-UNICAMP

P278e

Patto, Cláudio Eduardo Germano

Ecologia populacional de *Hylodes asper* (Anura: Leptodactylidae: Hylodinae): dinâmica e aspectos alimentares/Cláudio Eduardo Germano Patto.-- Campinas, SP: [s.n.], 1999.
88 p: illus.

Orientador: João Vasconcelos Neto
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

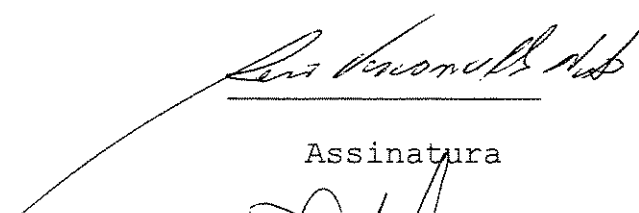
1. Ecologia animal. 2. Alimentos. 3. População. I. Vasconcelos Neto, João. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Campinas, 12 de agosto de 1999.

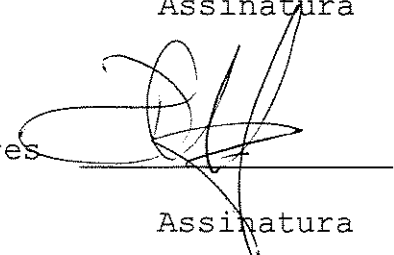
Banca Examinadora

Titulares:

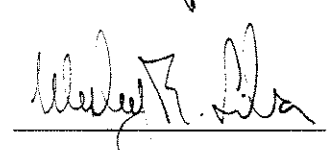
Prof. Dr. João Vasconcellos Neto


Assinatura

Profa. Dra. Denise de Cerqueira Rossa Feres


Assinatura

Prof. Dr. Wesley Rodrigues Silva


Assinatura

Suplente:

Prof. Dr. Luiz Francisco Lembo Duarte


Assinatura

Aos meus pais e ao meu irmão

Agradecimentos

Ao professor Adão Cardoso que me apresentou aos anfíbios e me apoiou nos trabalhos com a ecologia destes seres que tanto amou.

Ao professor Woody Benson pela amizade e apoio ao receber um "sapólogo" em meio aos "insetólogos". O envolvimento com este grupo foi fundamental na minha formação como ecólogo.

À professora Denise de Cerqueira Rossa Feres pelo incentivo e ajuda, me adotando como orientado informal nos difíceis momentos de trabalhar com os dados e descobrir o que eles têm a nos oferecer, e por corrigir e recorrer incansavelmente as minhas tentativas de escrever.

Ao professor João Vasconcellos Neto pela confiança ao assumir sem restrições a minha orientação formal.

À professora Cláudia Magalhães pelo carinho e amizade. Sua visão imparcial dos aspectos ecológicos, independente do grupo animal envolvido, foi fundamental para o delineamento e ajuste deste trabalho.

Aos demais professores da pós-graduação em ecologia que, por tantos anos de convivência contribuíram na minha formação de alguma forma.

Em especial aos professores Brown, Paulinho, Flavião e Eleonore, pela amizade e paciência.

Aos meus pais, Carlos Anibal Pyles Patto e Maria Laura Germano Patto, ao meu irmão Sérgio Augusto Germano Patto e aos meus sogros Edison Baptista Chaves e Glenda Wiedemann Chaves pelo incentivo e pelo apoio emocional que me ajudou a manter o equilíbrio durante o longo caminho percorrido até aqui.

A minha esposa Gabriela Wiedemann Chaves pela amizade, incentivo incessante e pela cumplicidade em todas as etapas da realização deste trabalho. Desde as disciplinas até a última correção, sua presença me influenciou, ajudou e moldou.

Aos colegas herpetólogos Ariovaldo A. Giaretta e Marcos Gridi Papp que tanto me ajudaram na escolha, preparação e otimização do projeto que resultou neste trabalho.

Aos loucos e/ou ingênuos Gabi, Márcio, Augusto, Flávia. Carolina e Chris que enfrentaram infindáveis pirambeiras enlameadas sob a chuva para me acompanharem no trabalho de campo e sobreviverem para contar a história.

Ao amigo Marcio Roberto Pie pelas discussões, opiniões e sugestões, sempre muito valiosas. Pela ajuda na estafante análise dos conteúdos estomacais e na redação dos manuscritos.

Aos amigos Arlindo, Maria, Flávia, Bacú, Sérgio, Chris e Paulo por estarem sempre por perto, ajudando, apoiando ou simplesmente ouvindo.

Aos demais colegas de turma Adriano, Aleixo, Cecília, Hermes, Milene, Paulinha e Rodrigo pelo companherismo e alegria de tantos anos de convivência.

Aos demais alunos da pós-graduação em ecologia, pelas grandes amizades e discussões.

Ao Lucas pela companhia em Paranapiacaba.

Aos amigos da UGGI pelas conversas e pela confiança na minha "especialidade".

Aos professores doutores Denise de Cerqueira Rossa Feres, Célio F. B. Haddad e José Roberto Trigo pela prestativa análise prévia da dissertação, contribuindo com minuciosas revisões, sugestões valiosas e comentários estatísticos úteis.

Aos colegas Bronson Griscom, Mathew Orr, Martin Schlaepfer, Paulo Holvorcem, Marcio Pie, Célio Haddad e Denise Rossa Feres pelas inúmeras e variadas correções do meu inglês capenga nos manuscritos, resumos e posterres.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos meus pais pelo suporte logístico e financeiro fundamental para o desenvolvimento do trabalho de campo e para a apresentação dos resultados em congressos.

Resumo.....	9
Abstract.....	11
Introdução.....	13
Material e Métodos.....	21
Capítulo I - Aspectos demográficos de <u>Hylodes asper</u> (Anura, Leptodactylidae).....	29
Capítulo II - Um método de lavagem estomacal para pequenos anuros.....	41
Capítulo III - Variação ontogenética da dieta de <u>Hylodes</u> <u>asper</u> (Anura, Leptodactylidae).....	47
Capítulo IV - Distância de fuga em <u>Hylodes asper</u> (Anura, Leptodactylidae).....	61
Considerações Finais.....	71
Literatura Citada.....	77
Apêndice I.....	87

Material e Métodos

Figura 1. Macho adulto de <u>Hylodes asper</u>	22
Figura 2. <u>Hylodes asper</u> sobre pedra em riacho de Mata Atlântica em Santo André, SP.....	22
Figura 3. Localização da área de estudo.....	24
Figura 4. Vista de um riacho de encosta de Mata Atlântica, em Santo André, SP.....	25
Figura 5. Vista da mata de encosta de Mata Atlântica, em Santo André, SP.....	25

Capítulo I

Figura 1. Proporção de indivíduos de <u>Hylodes asper</u> , por classe de 2.5 mm de comprimento ao longo do período reprodutivo.....	38
Figura 2. Taxa de crescimento em mm/mês de acordo com o tamanho do animal.....	39

Capítulo III

Figura 1. Relação entre o tamanho de <u>Hylodes asper</u> e das presas consumidas.....	58
Figura 2. Tamanhos máximos e mínimos de presas em relação ao tamanho de <u>Hylodes asper</u>	58
Figura 3. Tamanho das presas consumidas por <u>Hylodes asper</u> ...	59
Figura 4. Proporção de utilização de presas por classe de tamanho de <u>Hylodes asper</u>	60

Capítulo IV

Figura 1. Distância média de fuga de <u>Hylodes asper</u> em dia ensolarado e nublado.....	69
--	----

Capítulo I

Tabela 1. Tamanho e crescimento de 5 <u>Hylodes asper</u> acompanhados durante todo o estudo.....	37
Tabela 2. Tamanho médio de fêmeas e machos de <u>Hylodes asper</u>	37

Capítulo III

Tabela 1. Lista de presas utilizadas por <u>Hylodes asper</u>	57
---	----

Capítulo IV

Tabela 1. Comparação da distância de fuga de <u>Hylodes asper</u> em função da hora do dia e da cobertura por nuvens.....	68
Tabela 2. Comparação da distância de fuga de <u>Hylodes asper</u> em função da hora do dia e da classe etária dos animais.....	68
Tabela 3. Distância de fuga média de adultos e juvenis de <u>Hylodes asper</u> ao longo do dia.....	68

Os anuros leptodactilídeos da sub-família Hylodinae, endêmicos de riachos de Mata Atlântica, são muito pouco estudados, e quase nada é conhecido sobre a ecologia das populações de adultos. Neste trabalho, uma população de Hylodes asper foi acompanhada durante um ano, com objetivo de determinar a dinâmica populacional e os hábitos alimentares. Foi observada uma baixa densidade bruta, mas uma alta densidade ecológica, considerando apenas a área dos riachos ocupados pela espécie. A estrutura etária da população variou sazonalmente, sendo composta principalmente por adultos no início da estação reprodutiva, em novembro, por adultos e juvenis recém metamorfoseados no pico da estação reprodutiva, em janeiro e principalmente por juvenis no final da estação reprodutiva. Os indivíduos estudados apresentaram crescimento contínuo. Os jovens apresentaram taxas de crescimento maiores que as dos adultos. Os juvenis que completaram seu desenvolvimento larval durante o verão, cresceram rapidamente ao longo do ano, atingindo a maturidade sexual já com um ano de vida. Os machos aparentemente cresceram em taxas menores que as fêmeas, que chegaram a apresentar, com a mesma idade, até 4 mm a mais que os machos adultos.

O método de lavagem estomacal foi testado e adaptado com sucesso para o uso em anuros pequenos. A dieta de Hylodes

asper foi extremamente diversificada, com presas terrestres, aquáticas e aéreas pertencentes a mais de 20 ordens taxonômicas. Foi observada uma variação ontogenética na dieta. Indivíduos maiores de H. asper passaram a utilizar presas grandes, sem deixar de utilizar as pequenas. Além do tamanho, houve uma variação nas proporções utilizadas das categorias de presas em função do tamanho do anuro. Esta variação pode ser explicada em parte pela compartimentalização do tamanho dos taxons dos artrópodos, mas também por uma diferença nos hábitos dos anuros e de suas presas. Os jovens utilizaram mais presas aquáticas, enquanto que os adultos utilizaram mais presas terrestres.

Foi registrado um padrão consistente na distância de fuga. Tanto no dia ensolarado quanto no nublado a fuga ocorria a uma maior distância pela manhã, diminuindo próximo ao meio-dia e voltando a aumentar a tarde. Este padrão foi mais evidente no dia ensolarado. Também foi encontrada uma variação da distância de fuga em função da idade do animal. Os juvenis apresentaram uma menor oscilação na distância de fuga, sendo mais tolerantes à aproximação de um predador em potencial.

Abstract

There is very few information about the Leptodactylidae sub-family Hylodinae, endemic to the Atlantic Forest streams. Almost nothing is known about the adults population ecology. In this work, a population of *Hylodes asper* was followed during a period of a year to observe its dynamics and its feeding habits. Despite of the low total density that was observed found, a high ecological density was found (considering only the streams area). The age structure of the population varied sazonnally. There were almost only adults in the begining of the reproductive season in November, both adults and young juveniles in the peak of the reproductive season in January and a moajority of juveniles in the end of the reproductive season in February. The observed animals presented continuous growth. The juveniles had larger growth rates than the adults. The juveniles that finished their metamorphosis during the summer, had grown quickly during the year, reaching the sexual maturity with one year old. The males apparently had grown slower than the females, that used to be up to 4 mm larger than the adult males.

The stomach flushing method was tested and successfully adjusted to be used in small anurans. The diet of Hylodes asper was extremelly diversified, presenting terrestrial, aquatic and aerial preys of more than 20 taxonomic orders. A

ontogenetic diet variation was observed. Larger individuals used larger prey items, but they continued to capture small items. There was also a variation in the prey type proportion used according to the frog size. This variation could be explained in part by a size compartmentalization of the arthropods taxons, but also by an habit difference among the different frog ages and their preys. The younger and smaller frogs used proportionally more aquatic preys while the larger adults used more terrestrial preys.

There was a consistent pattern in the escape distance behavior of the studied species. The escape was bigger in the early morning, reducing by the mid-day and growing again during the afternoon, both in the sunny and in the cloudy day. There have been also a variation in the escape distance according to the anuran age. The juveniles presented a small ocilation in the escape distance, being more tolerant to a potential predator aproximation.

Introdução

O estudo de populações, ou demografia, foi desenvolvido, principalmente em estudos agrícolas e florestais e para populações humanas (Tamarin 1978). Mesmo podendo ser considerados como sinônimos, os termos demografia e estudo populacional são utilizados em situações distintas. A demografia é normalmente associada a populações humanas, especialmente vinculada a informações básicas como as estatísticas vitais e a estrutura estática de populações. A terminologia "estudos populacionais" abrangem os outros aspectos relacionados com populações, como fatores reguladores e dinâmica (Tamarin 1978; Pianka 1983).

A limitação do tamanho populacional e os fatores que influenciam a estabilidade e a manutenção destas é um dos principais aspectos abordados nos estudos populacionais e derivados principalmente, da sua aplicação em estudos de pragas. Nicholson (1957) durante décadas elaborou o conceito de regulação populacional, enquanto que Andrewartha e Birch (1954) defendiam que fatores reguladores eram secundários e de menor importância e que as populações seriam controladas por fatores independentes de densidade. Mesmo sendo baseada em estudos entomológicos de pragas agrícolas, esta controvérsia repercutiu por quase todos os grupos animais (Tamarin 1978).

Dentre os anfíbios anuros, Turner (1962) agrupou as

informações populacionais básicas de campo e de laboratório, no intuito de analisar quais fatores influenciariam o tamanho das populações destes animais e quais mecanismos estariam atuando sobre seus números e sua distribuição. Apesar de ter lançado mais perguntas que respostas, suas idéias provocaram o aumento de estudos populacionais básicos que buscaram investigar a influência de fatores dependentes e independentes de densidade sobre as populações de anfíbios. Foram encontrados fatores independentes de densidade como secagem de poças (Semlitsch 1983; Shoop 1974; Bell e Lawton 1975), congelamento de poças (Heyer 1979) e inundação de poças (Metter 1968; Rand et al 1983, Duellman e Trueb 1994). Foi demonstrada a influência de vários fatores dependentes de densidade como predação (Calef 1973; Hairston 1987), competição (Dash e Hota 1980; Kluge 1981; Hairston 1987), alimento (Tyler 1976) e abrigo (Stewart e Pough 1983).

Atualmente, alguns destes fatores controladores do tamanho populacional mencionados anteriormente, especialmente os ~~fatores climáticos, têm sido unidos a outros fatores mais~~ recentes como a poluição do ar e da água e a destruição de habitats para explicar o declínio e a extinção de populações de anuros, especialmente dos anuros tropicais (Wake 1991). Os estudos visando compreender este fenômeno e os fatores causadores deste declínio estão baseados em amostragens de comunidades e em estudos fisiológicos (Peachmann et al 1991).

Populações de anfíbios anuros tropicais apresentam fortes

ciclos populacionais sazonais e podem se tornar muito pequenas e vulneráveis a grandes alterações no hábitat e no clima (Giaretta 1999). Assim, a discussão sobre as causas destas extinções devem ser concentrada nos processos populacionais que estas espécies sofrem (Stebbins e Cohen 1995). Para não correremos o risco de nos basearmos em modelos irreais e hipóteses que não correspondam a realidade, é fundamental a existência e utilização de um sólido corpo de dados empíricos, que permitam-nos compreender os processos populacionais atuando sobre as espécies investigadas (Hairston 1987).

Apesar da sua fundamental importância para a compreensão da dinâmica populacional, poucos estudos registram informações populacionais básicas de anuros neotropicais e menos ainda de anuros brasileiros (Barbault 1984; Moreira e Lima 1991). Não há praticamente nenhuma informação populacional sobre os leptodactilídeos da sub família Hylodinae (Heyer et al 1990), que vêm desaparecendo de áreas de Mata Atlântica (Stebbins e Cohen 1995). Especula-se que invernos excessivamente secos, ~~somados à poluição atmosférica causadora de chuva ácida, sejam~~ os fatores causais do declínio destas espécies (Weygoldt 1989).

Parte deste estudo (Capítulo I) visou contribuir para o melhor entendimento dos processos populacionais de Hylodes asper (Müller), registrando informações básicas como estimativas de tamanho populacional, densidade, dinâmica da estrutura etária, e sua relação com as taxas individuais de

crescimento.

A alimentação é um dos aspectos específicos da ecologia de populações. O estudo da dieta pode revelar muitas informações a respeito da história natural e da ecologia de uma espécie (Pianka 1973; Hairston 1987). Entretanto, para investigar a dieta de anfíbios e de pequenos lagartos é necessário a manipulação do conteúdo estomacal, em geral sob microscópio estereoscópico. Até a década de 80, os conteúdos eram obtidos através da dissecação de animais de coleção (Vitt e Caldwell 1994) ou de animais coletados especialmente com esta finalidade (Lima e Moreira 1993), o que não é mais justificável frente ao declínio de populações mundiais de anfíbios (Wake 1991). Algumas técnicas não destrutivas foram desenvolvidas para contornar este problema, como observação direta (Murphy 1976); eversão de estômago (A.A. Giaretta comunicação pessoal) e lavagem estomacal (Gittins 1987; Legler e Sullivan 1979; McAlpine e Dilworth 1989). Para obter os conteúdos estomacais de pequenos anuros estes métodos não eram empregados por suposta ineficiência e dificuldade, utilizando ainda a coleta e fixação de indivíduos (Lima e Moreira 1993). Para evitar coletar espécimes apenas para o estudo da dieta e visando não perturbar a população em estudo, o que impossibilitaria o estudo demográfico ao longo de um ano, o método de lavagem estomacal foi testado e adaptado com sucesso para uso em anuros pequenos (Capítulo II).

Vários aspectos da ecologia de anfíbios e répteis estão

associados à alimentação e dieta (Duellman e Trueb 1994). O alimento pode atuar diretamente como um recurso limitante, regulando populações (Tyler 1976), promovendo competição interespecífica (Werner 1994), partilha (Schoener 1974) ou deslocamento de utilização de recursos (Krzysik 1979). O estudo da dieta pode também servir como indicador indireto de aspectos ecológicos como a utilização de hábitat (Davic 1991) e comportamento de forrageamento (Pianka 1973). A investigação da dieta pode ainda revelar aspectos interessantes da ecologia de populações, como a utilização diferencial de alimento entre os sexos ou entre diferentes faixas etárias (Lima e Moreira 1993; Donnelly 1991). A teoria corrente explica a utilização diferencial de presas entre categorias sexuais ou etárias pela diferença no tamanho da mandíbula dos predadores. Animais de tamanhos diferentes, com mandíbulas igualmente de tamanhos distintos, ingerindo tudo que caiba em sua boca, utilizarão tamanhos diferentes de presas (Huey e Pianka 1981; Toft 1985; Magnusson et al. 1985). Como os artrópodos, as principais presas dos anuros, tem seus tamanhos compartimentalizados, com a distribuição de tamanhos variando conforme o taxon (Schoener e Jansen 1968), uma utilização de presas de tamanhos distintos provoca também uma diferença no tipo de presas ingeridas (Huey e Pianka 1981; Lima e Moreira 1993). Entretanto, outros fatores, além do tamanho da boca e da compartimentalização dos tamanhos das presas, podem explicar variações intrapopulacionais na dieta. Já foram reportados casos de

variações ontogenéticas da dieta mediados pelo hábitat em peixes (Griffiths 1975; Stoner e Livingstone 1984) e em répteis (Schoener e Gorman 1968; Mushinsky et al. 1982). Entretanto, em anfíbios anuros, diferenças ontogenéticas na dieta ainda são somente associadas ao crescimento da mandíbula (Lima e Moreira 1993). Neste estudo (Capítulo III) foi registrada uma variação ontogenética na dieta de Hylodes asper. Parte dela pode ser explicada pela teoria corrente de crescimento da mandíbula e ingestão de taxons maiores, mas alguns itens não se conformam a este modelo. Parte da variação da dieta de H. asper está aparentemente relacionada ao micro-hábitat ocupado pelas diferentes categorias etárias.

Além dos aspectos alimentares e demográficos, a distância de fuga dos Hylodes asper revelou um padrão consistente e mereceu uma investigação paralela ao trabalho principal da tese. A predação exerce uma importante pressão seletiva sobre populações naturais, o que é refletida em adaptações como cripticidade, proteções estruturais e mimetismo (Edmunds 1974, Curio 1976). Entretanto, mesmo animais crípticos devem eventualmente tomar decisões de quando e onde estar ativos (Rowe e Owings 1990). Para isto, os animais devem não apenas poder estimar os riscos envolvidos na interação com um predador, mas também tomar decisões comportamentais que minimizem estes riscos (Rowe e Owings 1990). Uma maneira de abordar estas questões é estudar os fatores que influenciam a distância máxima que uma presa permite que um predador em

potencial alcance antes de fugir, também chamada de distância de fuga (Rand 1964). Em répteis e anfíbios, animais ectotérmicos, a distância de fuga é geralmente afetada por fatores que influenciam sua temperatura corporal, como a temperatura e umidade do ar e a insolação (Rocha e Bergallo 1990). Neste trabalho (Capítulo IV) foi registrada uma variação da distância de fuga em função da hora do dia, em um dia ensolarado e em outro nublado, e também uma variação ontogenética da distância de fuga.

Espécie estudada

Os leptodactilídeos da sub-família Hylodinae ocorrem preferencialmente associados a riachos de matas bem preservadas. Em geral possuem hábito diurno, sendo encontrados quase exclusivamente durante o dia. A espécie Hylodes asper (Müller) é encontrada na Mata Atlântica do sudeste brasileiro, intimamente associada a riachos de encosta, especialmente os de maiores dimensões, com mais de 1m de largura e mais expostos à luminosidade. O comprimento rostro-cloacal (CRC) dos indivíduos sexualmente maduros varia de 38 mm a 50 mm, tendo os machos, em média, 41 mm e as fêmeas 44 mm (Heyer et al. 1990) Os indivíduos desta espécie apresentam coloração marrom escuro, com poucas manchas marrom claras na parte superior. Os adultos possuem pontos amarelados na linha lateral que lhes confere um aspecto rugoso ou áspero, o que deu origem ao seu epíteto específico (Figura 1). Os machos possuem dois sacos vocais dispostos lateralmente e costumam vocalizar o dia inteiro. Indivíduos de H. asper são geralmente encontrados sobre pedras de tamanhos variados (Figura 2), podendo ainda ser encontrados mais raramente sobre galhos, com parte do corpo na água ou nas margens. Os machos adultos são comumente encontrados sobre as pedras de tamanhos médios a grandes emitindo vocalização e frequentemente realizando movimentos com os dedos e as patas posteriores em



Figura 1. Macho adulto de Hylodes asper.

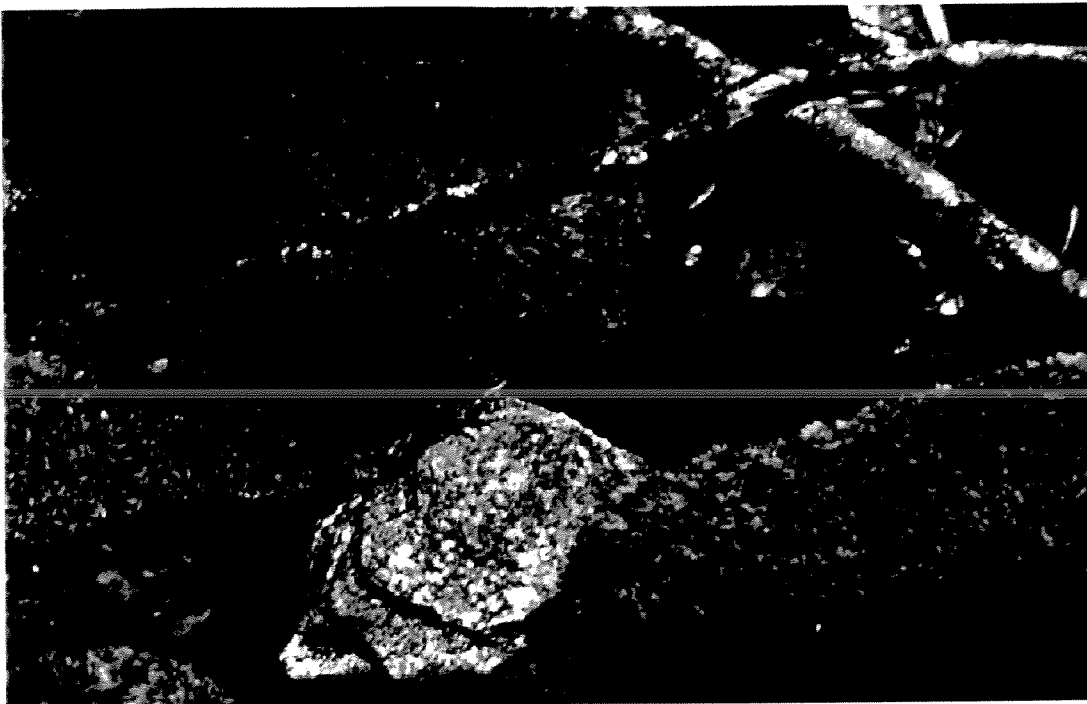


Figura 2. Hylodes asper sobre pedra em riacho de Mata Atlântica em Santo André, SP.

forma de bandeiolamentos em conjunto com a vocalização (Heyer et al. 1990; Haddad e Giaretta 1999). Indivíduos juvenis são também comumente encontrados nestes riachos, ocupando entretanto sítios mais próximos à água, sobre pedras pequenas, nas bordas de pedras maiores ou na margem dos riachos (Obs. pessoal do autor).

Área de Estudo

O estudo foi realizado nas proximidades da cachoeira da Pedra Lisa, área localizada entre o distrito de Paranapiacaba, município de Santo André, e a Cidade de Santos, no Estado de São Paulo (23°38'S, 45°52'W) (Figura 3), com altitude em torno de 500 a 600 m. A área localiza-se a 12 km da costa Atlântica, pertencendo ao domínio morfoclimático da Mata Atlântica. No local de estudo o solo é arenoso com uma cobertura de 10 a 15 cm de terra marrom geralmente coberta com serrapilheira (Ab'Sáber 1977). A escarpa é drenada por uma série de riachos (Figura 4) que seguem a inclinação do relevo direto para o Oceano Atlântico (Ab'Sáber 1977). A mata que cerca a área de estudo é relativamente contínua, constituída por uma floresta mista ou de neblina, com um dossel contínuo e baixo (Figura 5). A vegetação ao lado dos riachos maiores pode ser caracterizada como arbustiva. O solo da mata encontra-se constantemente umidecido, uma vez que a região é frequentemente coberta por serração e a pluviosidade



Figura 3. Localização da área de estudo.



Figura 4. Vista de um riacho de encosta de Mata Atlântica, em Santo André, SP.

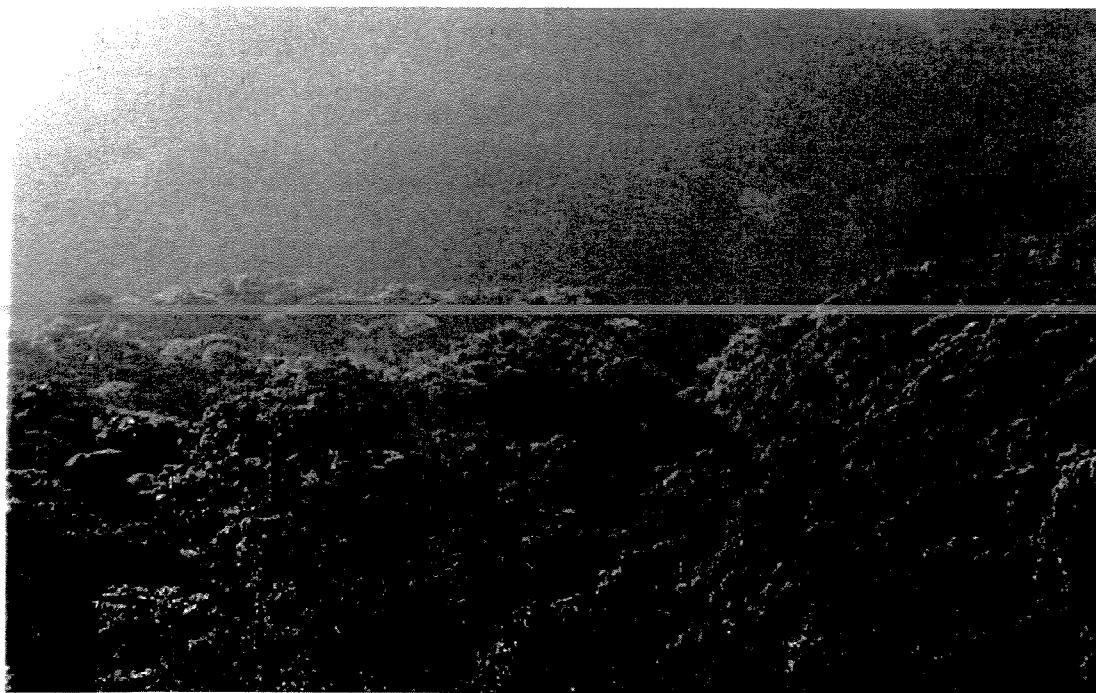


Figura 5. Vista da mata de encosta de Mata Atlântica, em Santo André, SP.

da região atinge valores superiores 3000 mm anuais. A sazonalidade do clima na região pode ser expressa como dois extremos de condições: de dezembro a fevereiro o clima é quente e muito úmido e de junho a agosto é mais ameno e mais seco. Os outros meses normalmente são variáveis e costumam constituir um período de transição entre os extremos anuais de temperatura e umidade. Heyer et al. (1990) descrevem as condições climáticas na Boracéia, área também localizada na escarpa da Serra do Mar e com condições climáticas semelhantes às da área de estudo.

Metodologia de Campo

Foram realizadas 12 visitas à área de estudo, concentradas no verão de 1996/1997 e no verão do final de 1997, incluindo algumas visitas entre estes períodos. A permanência no local de estudo nunca era superior a 4 dias, buscando-se diminuir ao máximo o impacto da coleta de dados sobre os animais.

A atividade de campo consistia em percorrer os riachos que drenam a área acima da Pedra Lisa procurando por indivíduos de H. asper, desde antes do nascer do sol, até o final da tarde, quando escurecia dentro da mata. Foi utilizado o método de procura visual, buscando os indivíduos sobre as pedras ou troncos no riacho, ou ao longo das margens destes. Em geral era possível enxergá-los à distância, mas quando isto não acontecia, os indivíduos eram facilmente encontrados quando se moviam. A aproximação era feita a velocidade constante, sem

trancos ou movimentos bruscos. Ao serem encontrados, os indivíduos eram perseguidos e capturados com a mão. A distância de fuga de cada indivíduo foi registrada em dois dias de observações, determinando-se a distância do pesquisador para o animal no primeiro sinal de reação deste. Uma vez que a distância de fuga não era muito grande e devido ao hábito de pular na água, nadar alguns centímetros e reaparecer do outro lado do riacho, poucos indivíduos conseguiram fugir à captura.

Os indivíduos capturados foram medidos e marcados através de uma variante do método de amputação de artelhos (Heyer et al. 1994) para o estudo demográfico. O sexo foi registrado e em seguida os indivíduos passaram por um processo de lavagem estomacal para coleta do conteúdo alimentar. Os conteúdos foram então fixados imediatamente em álcool etílico a 70% e os frascos coletores selados com parafilme para que não vazassem no transporte até o laboratório. A metodologia empregada no estudo demográfico e na determinação do hábito alimentar estão descritas nos capítulos I e III, respectivamente. Após realizados todos estes procedimentos, os animais eram liberados no local da captura.

Metodologia de laboratório

O conteúdo estomacal foi analisado sob microscópio estereoscópico. Os itens que se prestavam a identificação foram separados do restante já digerido. Cada item foi

identificado até o nível taxonômico menos inclusivo possível: Classe, Ordem ou Família. Após a identificação, cada item tinha seu comprimento e largura máximos medidos com o uso da régua graduada da lupa. Estas medidas foram aplicadas à fórmula da esfera alongada para estimar o volume do item:

$$\text{Volume} = 4/3 \pi (\text{Comprimento}/2) (\text{Largura}/2)^2$$

Apesar dos itens observados dificilmente apresentarem a forma elipsoidal perfeita, esta é uma das mais eficientes metodologias para estimar o volume individual de pequenos artrópodos (Vitt e Caldwell 1993). Os itens da dieta estão depositados na coleção do Museu de História Natural da Unicamp.

Capítulo I

Population demography of Hylodes asper (Anura, Leptodactylidae)

Herpetológica - a ser submetido para publicação

There has been a considerable debate in the literature about anurans population declines and extinction (Wake 1991). Major climatic changes have been pointed as a major factor leading to anuran declines in the tropics, followed by habitat loss. However, the discussion about the causal facts on this process must be focused on the anuran population processes, rather than on individual physiology or community assemblages. Anurans populations have a very strong seasonal cycle and can become very small and vulnerable to habitat or climate variations in the dry periods (Giaretta 1999).

However, in order to understand anuran populational processes it is imperative to have a solid background on empirical data, otherwise there is the risk of devising models and hypotheses that do not correspond to reality. Surprisingly, despite its obvious importance, there are very few studies on this subject (Barbault 1984; Moreira and Lima, 1991). There is almost no information about the sub-family Hylodinae, endemic to the Brazilian Atlantic Forest. This ecosystem is itself endangered (Mittermeier et al. 1997), what demands even more effort in order to understand populational processes of endemic fauna.

This paper is a small contribution in order to understand populational processes of Hylodes asper (Müller), a medium sized Hylodine (adults length varies from 39 to 50 mm). Here we provide for the first time, estimates of population size and density, the animals' growth rates, its variation along the time and its relation to the demographic structure

The study was conducted from January to December of 1997 in a small microbasin of mountain streams in the Brazilian Atlantic Rainforest, consisting of approximately 15 ha of forest drained by about 500 m of streams, varying in altitude from 500 to 600 m above sea level. The study area is located in Paranapiacaba, Municipality of Santo André, State of São Paulo, Brazil (23°28'S; 45°52'W). Hylodes asper is frequently found along these streams, usually perching on the river rocks and logs along daytime. Further details on these species and habitat can be found in Heyer et al. (1990).

Preliminary observations confirmed that H. asper is strictly diurnal. Thus the streams were surveyed only during daytime hours. Each captured animal had its snout-urostyle length (SUL) measured using a plastic dial caliper to the nearest 0.5 mm and were marked by a variant of the toe-clipping method listed on Heyer et al. (1994). Up to three toes were cut but never two of the same hand, what formed 499 possible combinations. None of the recaptured animals showed regeneration or infections on the clipped toes. The size of the animal was used as an estimate of the animal's age, since

anurans present continuous growth (Heyer et al. 1994). The animals were divided in three age classes: early juveniles (SUL smaller than 30 mm); late juveniles (SUL smaller than 39 mm); and the adults (SUL with 39 mm or larger). The presence of vocal sacs in the adults was used for sex identification. Frogs smaller than 39 mm might not have their sexual characteristics developed and were therefore considered juveniles. After identification, the animals were released in the place of capture.

The recapture data were analyzed by the Seber modification of Petersen method (Krebs 1989). An estimate of H. asper development rate was computed by measuring differences in body size in recaptured animals, creating a mm/month rate. The growth of recaptured animals were estimated as the length difference between consecutive measures.

At the end of the field work there was 163 animals marked and measured, from which 35 have been recaptured, totalizing 198 captures. There was a clear increase in the estimated population size from the beginning (126) to the end (249) of the breeding season. The population size estimated in the whole study period lies about 473 and 824 animals. The density of animals in the whole study area is among 31 and 54 animal/ha. This can be considered a low frog density comparing to some forest litter species (e.g. Giaretta 1999). However as this species does not occupy the forest floor between the streams, we should compute only the streams area to achieve

the ecological density among 0.9 and 1.6 frogs/m². This density is nearer to other stream species (e.g. Inger and Greenberg 1966). As H. asper has very narrow home-range and the vocalizing males can be intolerant to other males (Haddad and Giaretta 1999), this density can be considered high to a territorial species (Crump 1988). Although some areas of the stream are not used and others are over occupied, the adult males do not stay so close to each other but it is common to find some juveniles or females surrounding a calling male, what can justify this high density.

The demographic structure of the population varied along the summer (Figure 1). In November and December, beginning of the reproductive season, there was a predominance of adults in the population (Figure 1C), with the largest mean animal size ($\bar{x}=41.52\text{mm}$; $\text{SE}=0.41$). In January the population was composed by both adults and early juveniles. It showed a bimodal size distribution (Figure 1A), with intermediate mean animals sizes ($\bar{x}=33.08$; $\text{SE}=1.18$). In February, end of the reproductive season, there was a predominance of juveniles (Figure 1B), and the population had it smallest mean animals size ($\bar{x}=30.88$; $\text{SE}=0.85$). The mean animal sizes have differed significatively in the three studied periods (ANOVA: $F = 54.754$; $\text{D.F.} = 2$; $p < 0.001$), being the November and December mean bigger than January and February (ANOVA: Tuckey = 8.441 and 10.637; $\text{D.F.} = 181$; $p < 0.000$). January and February means did not differ significatively (ANOVA: Tuckey = -2.196; $\text{D.F.} = 181$; $p =$

0.159).

The animals' growth has varied according to the size class, decreasing in the larger animals. The early juveniles had grown more than the late juveniles, and the adults, that had the smallest growth rates (figure 2).

Our results suggest that, although some two or three year old adults remain in the population in the beginning of the new reproductive season, this species has its population structure determined by the high rate of annual recruitment of juveniles. The high juveniles' recruitment is common in tropical leaf litter species (Moreira and Lima, 1991). The juveniles that usually metamorphose from the middle to the end of the reproductive season grow rapidly during 8-10 months, reaching its adult size and being ready to its first reproductive season with one year old. The few adults that remained in the population, showed a slow and continuous growth. By the end of the year, in the beginning of the reproductive season, almost the entire population is composed by adults, the great majority one year old adults, with a few pre-adults and some 2 or 3 year old adults.

Comparing the males and females sizes, the males mean SUL ($x = 41.5$; $SE = 0.25$) were significantly smaller than the females ($x = 43.6$; $SE = 0.44$) (ANOVA: $F(1; 106) = 22.47$; $p < 0.0001$) From the five animals that have been followed during the whole study (Table 1), the males have grown slower than the females, reaching a smaller adult size by the beginning of

the reproductive season (Table 2). This faster female growth may let the female acquire enough size to produce a satisfactory mass of eggs.

These results contribute to increase the scarce empirical data about tropical anuran populations. Our results suggest that this anuran species, with frogs present in the habitat during the whole year, undergo a strong seasonal population cycle and has its population structured by the juvenile recruitment, that massively contributes to the adult population, almost renewing the entire population in the consecutive reproductive period. As consequence, each local population can become very sensible to minor ambiental variations such as microhabitat changes and climate shifts that can disturb the larval development, and the juvenile recruitment and growth.

Literature Cited

- Barbault, R. 1984. Strategies de reproduction et demographie de quelques amphibiens anoures tropicaux. *Oikos* 43: 77-87.
- Crump, M.L. 1988. Aggression in harlequin frogs: male-male competition and a possible conflict of interest between the sexes. *Anim. Behav.* 36: 1064-1077.
- Giaretta, A.A. 1999. Diversidade, densidade de anuros de serrapilheira num gradiente altitudinal na Mata Atlântica costeira. Universidade Estadual de Campinas, PhD Dissertation Thesis.
- Haddad, C.F.B., and A.A. Giaretta. 1999. Visual and acoustic communication in the brasilian torrent frog, Hylodes asper (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica* 55: 324-333.
- Heyer, W.R., A.S. Rand, C.A.G. Cruz, O.L. Peixoto, and C.E. Nelson. 1990. Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia* 31: 231-410.
- Heyer, W.R., M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.A.C. Hayek, and M.S. Foster. 1994. Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Amphibians. Smithsonian Institution Press. 364 pp.
- Inger, R.F., and B. Greenberg. 1966. Ecological and competitive relations among three species of frogs (genus Rana). *Ecology* 47: 746-759.

- Krebs, C.J. 1989. Ecological Methodology. HarperCollins Publishers. 654 pp.
- Mittermeier, R.A., Gil, P.R., and Mittermeier, C.G. 1997. Megadiversity: Earth's Biologically Wealthiest Nations. Quebecor Print, Inc.
- Moreira, G., and A.P. Lima. 1991. Seasonal patterns of juvenile recruitment and reproduction in four species of leaf litter frogs in central Amazônia. Herpetologica 47: 295-300.
- Wake, D. B. 1991. Declining amphibian populations. Science 253: 860.
-

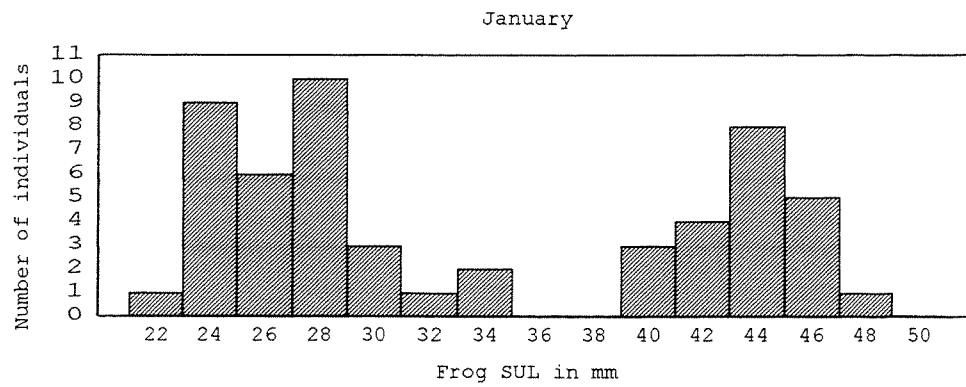
Table 1. Initial and final snouth-urostyle lenght (SUL) in mm of five H. asper followed during the study period and an estimate of mensal growth rate in mm/month.

Sex	Initial SUL	Final SUL	Growth
Male	32 mm	42 mm	1.0 mm/month
Male	33 mm	42 mm	0.9 mm/month
Male	45 mm	49 mm	0.4 mm/month
Female	27 mm	45 mm	1.8 mm/month
Female	27 mm	46 mm	1.9 mm/month

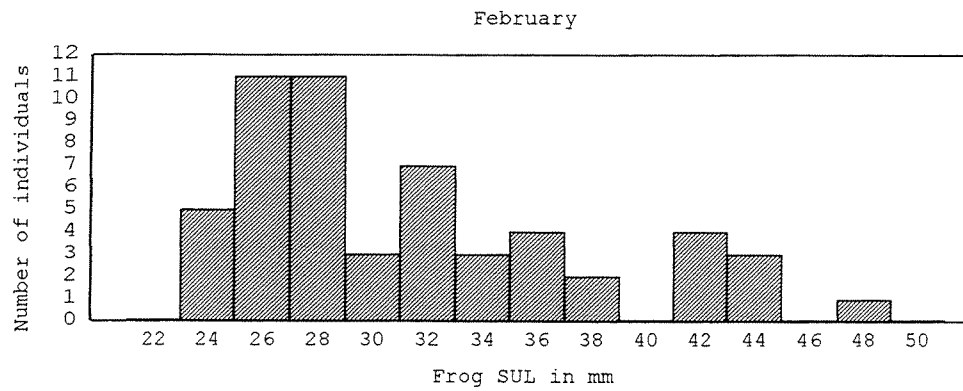
Table 2. Hylodes asper female and male mean SUL in mm $\pm$ SE

Time period	Female (X $\pm$ SE)	Male (X $\pm$ SE)
Peak of reproductive period (January)	45.2 $\pm$ 0.35	42.3 $\pm$ 0.45
Ending of reproductive period (February)	44.2 $\pm$ 1.31	41.7 $\pm$ 0.47
Beginning of reproductive period (November/December)	43.1 $\pm$ 0.55	41.3 $\pm$ 0.31
Total	43.6 $\pm$ 0.44	41.5 $\pm$ 0.25

A.



B.



C.

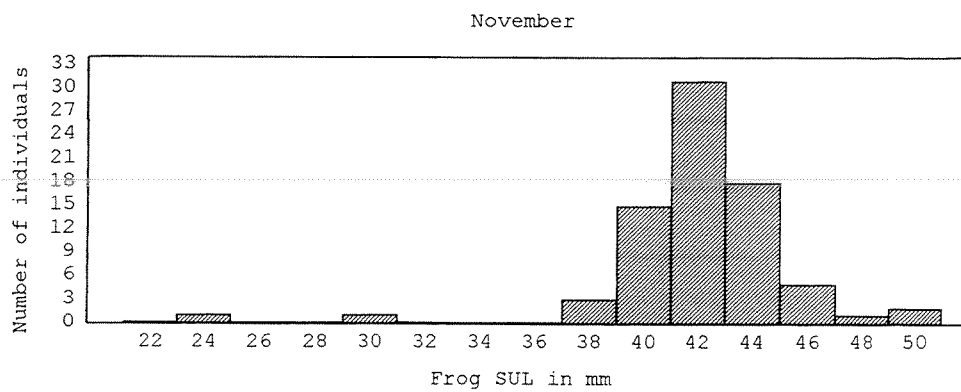


Figure 1. Proportion of individuals in 2.5 mm snouth-urostyle lenght (SUL) classes along the reproductive period. A. January 1997, B. February 1997 and C. November 1997.

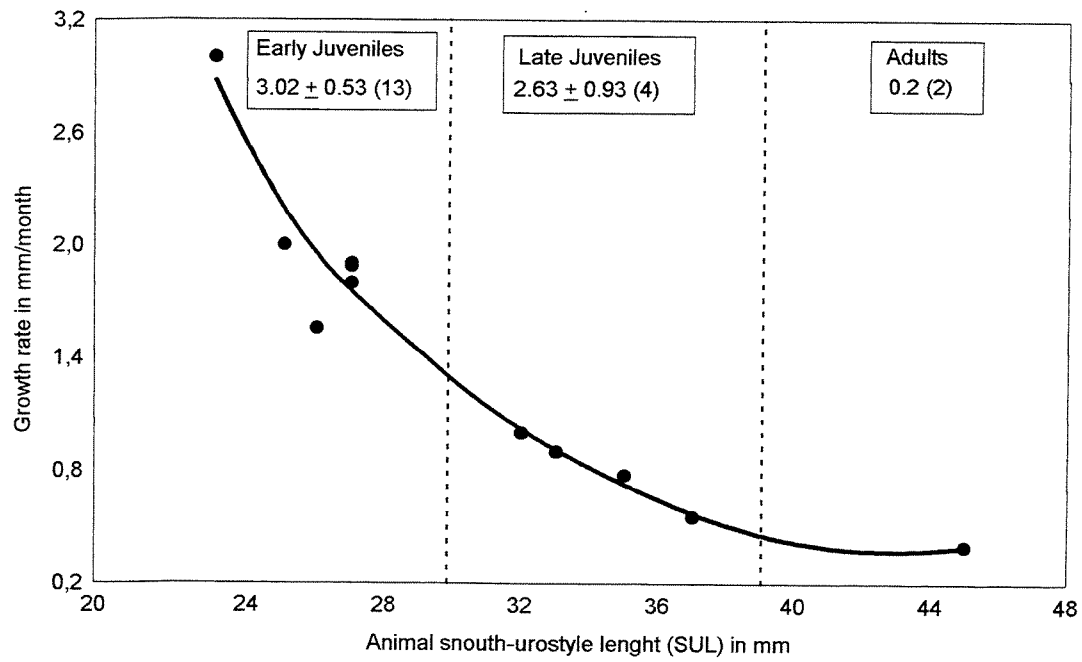


Figure 2. Growth rates in mm/month according to animal initial snouth-urostyle lenght (SUL) in mm. Growth mean, SE and n in the boxes.

Capítulo II

A simple stomach flushing method for small frogs
Herpetological Review 29(3): 156-157, publicado em 1998

Amphibian dietary studies conventionally employ dissection of fixed animals. This kind of study requires large samples, sometimes difficult to justify in light of amphibian population declines (Wake 1991). Another drawback is the destruction of specimens that could otherwise be useful for other purposes. Moreover, destructive sampling may interfere with population studies by affecting density dependent processes.

Non-destructive techniques have been used in a variety of dietary studies on large anurans including direct observation (Murphy 1976), stomach eversion (Giaretta personal communication), and stomach flushing (Gittins 1987; Legler and Sullivan 1979; McAlpine and Dilworth 1989). These methods, when carried out properly, cause low or no mortality, do not disrupt population processes and allow individuals to be sampled repeatedly over time. However, dietary studies of small frogs still rely on the collection and dissection of animals (Lima and Moreira 1993; Vitt and Caldwell 1994).

In this report I describe an adaptation of the stomach flushing method for use in small frogs. The method was used to study the diet of the small leptodactylid frog Hylodes asper

(Müller), an endemic species of the Atlantic forest of southeast Brazil. The range of snout-urostyle length (SUL) of postmetamorphic individuals of this species varies from 20 to 47 mm.

After capture, frogs which were too strong to immobilize with one hand (usually animals larger than 35 mm SUL), were anesthetized for a few seconds in a plastic bag containing cotton imbued with chloroform. In preliminary tests of the procedure, three frogs died after being exposed to chloroform for more than 20 seconds; 10 seconds of exposition seems to be a safe limit. Small individuals were not anesthetized to avoid unnecessary trauma. I used chloroform instead of liquid (Leclerc and Courtois 1993) or injected anesthetic (Letcher 1992) due to the faster recovery rate and because no anesthetic remains on the frog's body.

Anesthetization prevented frogs from using their hands to remove the flushing tubes from their mouths. After anesthetization I introduced a thin flexible silicone tube (Sigma Equipment 1 mm OD and 0.5 mm ID, 5 cm long) through the mouth into the stomach. When the tube reached the pylorus (the tube could be felt through the abdomen wall and the pylorus resisted further introduction), it was retracted approximately 1 mm. I then positioned the animal head down with its mouth pointing into a 100 ml collecting bottle and pumped water through the tube using a 20 ml syringe to wash out the stomach contents. While pumping water, I firmly pressed the lower

portion of the abdomen to prevent water from opening the pylorus and allowing the passage of food to the intestine. If I felt additional food through abdominal palpation, I repeated the procedure until all contents had been removed. When the procedure produced no further stomach contents, I repeated it once more to ensure that no food remained.

I toe-clipped study specimens for individual identification. Anesthetized animals were allowed to rest before they were released at the place of capture. In most cases, the frog fled within a few seconds by jumping. After release I preserved the stomach content samples by adding ethanol to the collecting bottle.

During 18 days in the field, I obtained 121 stomach contents from 97 animals. Twenty animals were recaptured, of which 13 were recaptured once and 7 twice. Food was found in the stomachs of 88% of the recaptures (only 3 of the recaptures lacked food). This suggests that the animals were not injured by the procedure and resumed normal feeding activities.

To check if food remained in the frogs' stomachs after flushing, I dissected six animals, three that had been killed in a preliminary collection and three that died during anesthetization trials. None contained food remains in the stomach. I performed the same test on an abundant invader species, Leptodactylus fuscus (Schneider). Twenty animals with SUL ranging from 35 to 45 mm were flushed. Food was found in

60% of the animals and no food remains were subsequently found by dissection.

The stomach flushing method can be used on small frog species as well as on larger anurans. Most animals seem to recover after release. The method may be especially useful for dietary analyses of rare, endemic or protected species, and in studies of population processes or of long term population trends. Furthermore, the whole procedure takes approximately 10 minutes from capture to release, somewhat less than that needed to sample the contents of a fixed animal, and can be performed by one person. The method uses little equipment, but must be performed immediately on freshly captured animals to diminish digestive loss and facilitate prey identification.

Literature Cited

- Gittins, S. P. 1987. The diet of the common toad (Bufo bufo) around a pond in mid-Wales. *Amphibia-Reptilia* 8:13-17.
- Leclerc, J., and D. Courtois. 1993. A simple stomach flushing method for ranid frogs. *Herpetol. Rev.* 24(4): 142-143.
- Legler, J. M., and L. J. Sullivan. 1979. The application of stomach-flushing to lizards and anurans. *Herpetologica* 35: 107-110.
- Letcher, J. 1992. Intracelomic use of tricaine methanesulfonate for anesthesia of bullfrogs (Rana catesbiana) and leopard frogs (Rana pipiens). *Zoo Biol.* 11: 243-251.
- Lima, A. P., and G. Moreira. 1993. Effects of prey size and foraging mode on the ontogenetic change in feeding niche of Colosthetus stepheni (Anura: Dendrobatidae). *Oecologia* 95: 93-102.
- McAlpine, D. F., and T. G. Dilworth. 1989. Microhabitat and prey size among three species of Rana (Anura: Ranidae) sympatric in eastern Canada. *Can. J. Zool.* 67: 2244-2252.
- Murphy, J. B. 1976. Pedal luring in the leptodactylid frog, Ceratophrys calcarata Boulenger. *Herpetologica* 32: 339-341.
- Vitt, L. J., and Caldwell, J. P. 1994. Resource utilization and guild structure of small vertebrates in the Amazon forest leaf litter. *J. Zool., Lond.* 234: 463-476.

Wake, D. B. 1991. Declining amphibian populations. Science
253: 860.

Capítulo III

Hylodes asper (Anura, Leptodactylidae) habits mediate
ontogenetic dietary shift
Journal of Herpetology - a ser submetido para publicação

Ontogenetic changes in the diet of lizards and amphibians are usually related to changes in the prey size consumed (Rose 1976; Dominguez and Salvador 1990; Pengilley 1971; Labanick 1976; Christian 1982; Donnelly 1991; Wiggins 1992). In these cases the increase in predators body size allows the consumption of larger prey items. Therefore, the shift in prey types occurs because the distribution of arthropod sizes varies among taxa (Schoener and Jansen 1968). In lizards and amphibians, the mechanisms that lead to differences in the sizes and consequently the types of the prey are usually related to head and jaw morphology and foraging mode (Huey and Pianka 1981; Toft 1981 1985; Strüssmann et al. 1984; Magnusson et al. 1985; Pough and Taigen, 1990; Perry et al., 1990; Lima and Moreira 1993; Lima 1998). In some cases, the ontogenetic shift have been related to changes in the habitat use by fishes (Griffiths 1975; Ross 1978; Grossman 1980; Stoner and Livingstone 1984) and reptiles (Schoener and Gorman 1968; Clark and Gibbons 1969, Mushinsky et al. 1982). In this study, we report that a ontogenetic dietary shift in the anuran Hylodes asper might be related to micro-habitat use rather than to prey size.

The study was conducted from January to December of 1997

in some small mountain streams in the Brazilian Atlantic Rainforest. The study area is located in Paranapiacaba, Santo André, State of São Paulo (23°38'S; 45°52'W). It has about 15 ha of forest drained by about 500 m of streams and varies in altitude from 500 to 600 m. Hylodes asper Müller, lives extremely associated to these streams. During the daytime they can be found on the river rocks or woods, and less frequently on the margins. Juveniles are also found in these streams, but they use to be close to the water, in small rocks, on the edge of the bigger rocks or on the stream margin (Authors personal observation). Further details on the study species and habitat can be found in Heyer (1990).

In this study, the streams were surveyed for animals during daytime hours. Once found, they were captured by hand and immobilized using one hand. Frogs that were too strong to immobilize with one hand were anesthetized with chloroform. Once immobilized, the stomach content was collected using a flushing method for small frogs (Patto 1998). Then, the animal snout-urostyle length (SUL) was measured with a plastic dial caliper to the nearest 0.5 mm. All animals were identified by a variant of the toe-clipping method listed on Heyer et al. (1994). The presence of vocal sacs in the adult animals was used to identify the males and, its absence, the female. Animals smaller than 39 mm might not have its sexual characteristics developed and were all considered juveniles. After identification the animals were released in the same

place of capture.

In the lab, the contents of each stomach were individually analyzed under stereoscopic microscope. The items were identified in taxonomic or ecological categories. After identification, the total length and width were measured using the graduated scale of the microscope. Using these measures we estimated the volume of each individual prey item with the formula for a prolix sphere:

$$\text{Volume} = 4/3 \pi (\text{Length}) (\text{Width})^2$$

We used the volume of the items to find out the proportional volume of each item used by the lmm frog size classes. The habitat were very heterogeneous, with a terrestrial, an aerial, and an aquatic portions. To estimate the size amplitude of the itens available to each frog we used the total items consumed by the whole studied population. This prey availability estimative is similar to that used by Vitt and Caldwell (1993) in a community study. We used linear regression to test how the frog size was related to the mean, maximum and minimun prey size, and the proportional utilization of each item by each frog lenght class. As prey consisted of a wide variety of invertebrates, we grouped them in 13 taxonomic and ecological categories. Some prey taxa of similar sizes were grouped by ecological similarity, specially habitat utilization (table 1).

The frog size was positively correlated to the prey size

($r^2 = 0.324$; $p < 0.001$). The larger the frog, the larger the mean size of the prey used (Figure 1). However, they have not simply switched the size of the items consumed. They started to catch larger items but they had not stopped consuming the small items. The evidence to this is that with the increase of the frog size, the minimum size of the prey consumed has remained approximately constant (Figure 2).

The distribution of arthropod sizes used varied among taxa. The smaller items used was the Chelicerata, Formicidae, Aquatic Larvae and Diptera. In an intermediate size distribution we found the Isopoda, TPD (Tricoptera, Plecoptera and Dermaptera), Crustacea and Coleoptera. The larger items used was the Hymenoptera non Formicidae, Homoptera and Hemiptera, Miriapoda, CLL (Coleoptera and Lepidoptera Larvae) and OBI (Orthoptera, Blataria and Isoptera) (Figure 3).

We found out a strong linear relationship between the proportional use of some prey items in the frogs' length in 1 mm SUL classes. As the frogs increased in size, they used proportionally more Chelicerata, Coleoptera, Hymenoptera non formicidae and OBI (Orthoptera, Blataria and Isoptera) and used proportionally less the Formicidae, the Aquatic Larvae, the Crustacea, and the Isopoda (Figure 4). In the other prey categories there is no linear trend in increasing or decreasing its utilization by the different frog sizes classes.

Some items, that have been progressively more used in the

larger frogs, are among the larger used items (OBI and Hymenoptera non Formicidae), while others that have been less used by larger frogs, are among the smaller items (Formicidae and Aquatic Larvae). This suggests that the mechanism mediating the ontogenetic diet shift in this frog species is the increase in the frogs jaws, which allow them to capture larger prey taxa, as have been reported before in other frog species (Christian 1982; Donnelly 1991; Wiggins 1992). However, some of the items more strongly shifted along the frogs' growth do not fit in this hypothesis. The Chelicerata and the Coleoptera, more used by the larger animals are on the small and intermediate categories, respectively, and the Crustacea and Isopodas that are drastically less used by the adults are on the intermediate category. These items, which shift can not be explained by its sizes, have peculiar habitat occupation. The Crustacea, more used by juveniles are extrictly associated to the water, or at least the water/rocks interface and the Isopoda occupy the margins of the streams. Moreover, the Chelicerata and the Coleoptera use to live more away from the water. As the juveniles used to stay more closer to the water, this differential microhabitat occupation seems to explain part of the ontogenetic dietary shift in this frog species, showing that the anurans may vary their diet not only by what fits in their mouth. What they eat might be differing by the microhabitat where they live. Just like the Davic (1991) juveniles salamanders that leave the water for more

prolonged time catching more aerial preys or one of the three frog species of Inger and Greenberg (1966) that stood a little bit more apart from the stream using less Crabs; the Hylodes asper may have its diet strongly influenced by the ontogenetic selection of the microhabitat where they live.

Literature Cited

- Christian, K.A. 1982. Changes in food niche during postmetamorphic ontogeny of the frog Pseudoacris triseriata, Copeia, 1982: 73-80.
- Clark, D.B., and J.W. Gibbons. 1969. Dietary shifts in the turtle Pseudemys scripta (Schoepff) from youth to maturity. Copeia 1969: 704-706.
- Davic, R.D. 1991. Ontogenetic shift in diet of Desmognathus quadramaculatus. Journal of Herpetology 25:108-111.
- Dominguez, J.F., and A. Salvador. 1990. Disponibilidad y uso de recursos tróficos por Lacerta schreiberi y Podarcis bocagei en simpatria en una localidad de la Cordillera Cantábrica, España. Amphibia-Reptilia 11:237-246.
- Donnelly, M.A. 1991. Feeding patterns of the strawberry poison frog, Dendrobates pumilo (Anura: Dendrobatidae). Copeia 1991:723-730.
- Griffiths, D. 1975. Prey availability and the food of predators. Ecology 56:1209-1214.
- Grossman, G.D. 1980. Ecological aspects of ontogenetic shifts in prey size utilization in the bay goby (Pisces: Gobiidae). Oecologia 47:233-238.
- Heyer, W.R., A.S. Rand, C.A.G. Cruz, O.L. Peixoto, and C.E. Nelson. 1990. Frogs of Boracéia. Arquivos de

- Zoologia 31: 231-410.
- Heyer, W.R., M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.A.C. Hayek, and M.S. Foster. 1994. Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Amphibians. Smithsonian Institution Press. 364 pp.
- Huey, R.B., and E.R. Pianka. 1981. Ecological consequences of foraging mode. Ecology 62:991-999.
- Inger, R.F., and B. Greenberg. 1966. Ecological and competitive relations among three species of frogs (genus Rana). Ecology 47: 746-759.
- Labanick, G.M. 1976. Prey availability, consumption and selection in the cricket frog, Acris crepitans (Amphibia, Anura, Hylidae), Journal of Herpetology 10:293-298.
- Lima, A.P. 1998. The effects of size on the diets of six sympatric species of postmetamorphic litter anurans in Central Amazonia. Journal of Herpetology 32:392-399.
- Lima, A.P., and G. Moreira. 1993. Effects of prey size and foraging mode on the ontogenetic change in feeding nich of Colosthetus stepheni (Anura: Dendrobatidae). Oecologia 95:93-102.
- Magnusson, W.E., L.J. De Paiva, R.M. da Rocha, C.R. Franke, L.A. Kasper, and A.P. Lima. 1985. The correlates of foraging mode in a community of brazilian lizards. Herpetologica 41:324-332.
- Moreira, G., and A.P. Lima. 1991. Seasonal patterns of

- juvenile recruitment and reproduction in four species of leaf litter frogs in central Amazônia. *Herpetologica* 47:295-300.
- Mushinsky, H.R., J.J. Herbrard, and D.S. Vodopich. 1982. Ontogeny of water snake foraging ecology. *Ecology* 63:1624-1629.
- Patto, C.E.G. 1998. A simple stomach flushing method for small frogs. *Herpetological Review* 29(3):156-157.
- Pengilley R.K. 1971. Calling and associated behaviour of some species of *Pseudophryne* (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Zoology (London)* 163:73-92.
- Perry, G., I. Lampl, A. Lerner, D. Rothenstein, E. Shani, N. Sivan, and L. Werner. 1990. Foraging mode in lacertid lizards: variation and correlates. *Amphibia-Reptilia* 11:373-384.
- Pough F.H., and T.L. Taigen. 1990. Metabolic correlates of foraging and social behavior of dart-poison frogs. *Animal Behaviour* 39:145-155.
- Rose, B.R. 1976. Habitat and prey selection of Sceloporus occidentalis and Sceloporus graciosus. *Ecology* 57:531-541.
- Ross, S.T. 1978. Trophic ontogeny of the leopard sea robin, *Prinotus scitulus* (Pisces: Triglidae). *Fish Bull* 76:225-234.
- Schoener, T.W., and G.C. Gorman. 1968. Some niche difference in three Lesser Antillean lizards of the

- genus Anolis. Ecology 49:819-830.
- Schoener, T.W., and D. Jansen. 1968. Notes on environmental determinants of tropical versus temperate insect size patterns. American Naturalist 102:207-224.
- Stoner, A.W., and R.J. Livingstone. 1984. Ontogenetic patterns in diet and feeding morphology in sympatric sparid fishes from seagrass meadows. Copeia 1984:174-187.
- Strüssmann, C., M.B.R. do Vale, M.H. Meneghini, and W.E. Magnusson. 1984. Diet and foraging mode of Bufo marinus and Leptodactylus ocellatus. Journal of Herpetology 18:138-146.
- Toft, C.A. 1981. Feeding ecology of panamanian litter anurans: patterns in diet and foraging mode. Journal of Herpetology 15:139-144.
- Toft, C.A. 1985. Resource partitioning in amphibians and reptiles. Copeia 1985:
- Vitt, L.J., and J.P. Caldwell. 1994. Resource utilization and guild structure of small vertebrates in the Amazon forest leaf litter. Journal of Zoology (London) 234:463-476.
- Wiggins, D.A. 1992. Foraging success of leopard frogs (Rana pipiens). Journal of Herpetology 26:87-88.

Table 1. Number and proportion of prey items used by Hylodes asper. Proportions are given in parenthesis. TPD = Tricoptera, Plecoptera and Dermaptera; CLL = Coleoptera and Lepidoptera Larvae; OBI = Orthoptera, Blatania and Isoptera.

ITEM	N (%)	Vol in mm ³ (%)
Chelicerata	49 (4.53%)	4151.82 (3.93%)
Formicidae	371 (34.32%)	12729.14 (12.05%)
Aquatic larvae	148 (13.69%)	3885.99 (3.68%)
Diptera	58 (5.37%)	5478.06 (5.19%)
Isopoda	78 (7.22%)	8723.11 (8.26%)
TPD	14 (1.30%)	1579.79 (1.50%)
Crustacea	99 (9.16%)	5027.06 (4.76%)
Coleoptera	107 (9.90%)	24044.21 (22.77%)
Hymenoptera non Formicidae	20 (1.85%)	3854.82 (3.65%)
Hemiptera and Homoptera	28 (2.59%)	10163.70 (9.62%)
Myriapoda	10 (0.93%)	311.89 (0.30%)
CLL	80 (7.40%)	12172.89 (11.53%)
OBI	19 (1.76%)	13487.57 (12.77%)
TOTAL	1081 (100%)	105610.03 (100%)

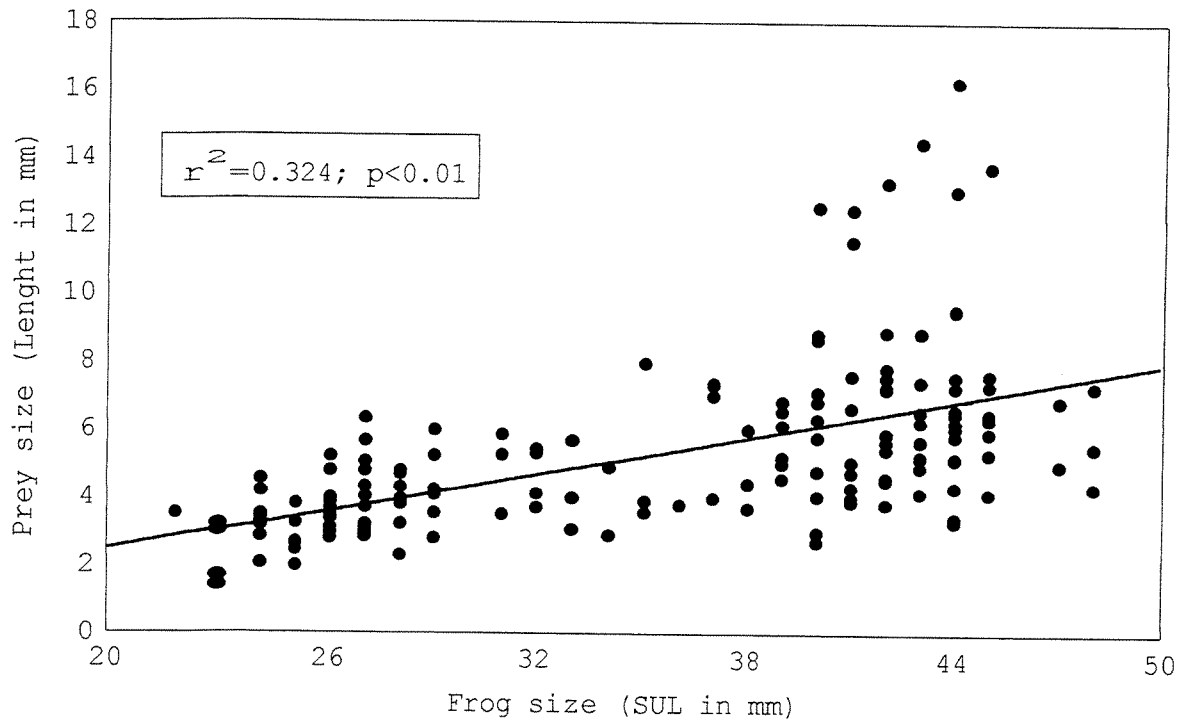


Figure 1. Relationship between mean prey size in the stomach contents and the frog snouth-urostyle length (SUL in mm).

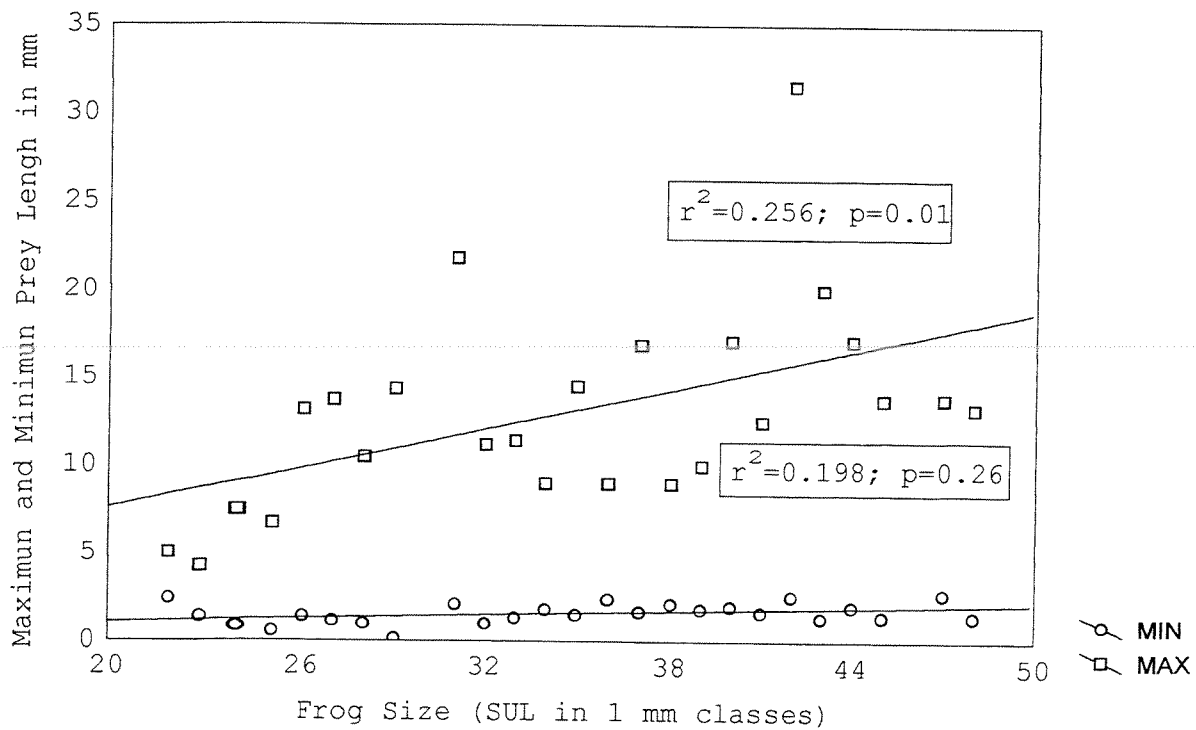


Figure 2. Minimum and maximum prey length in mm in each 1 mm frog snouth-urostyle length (SUL) classes.

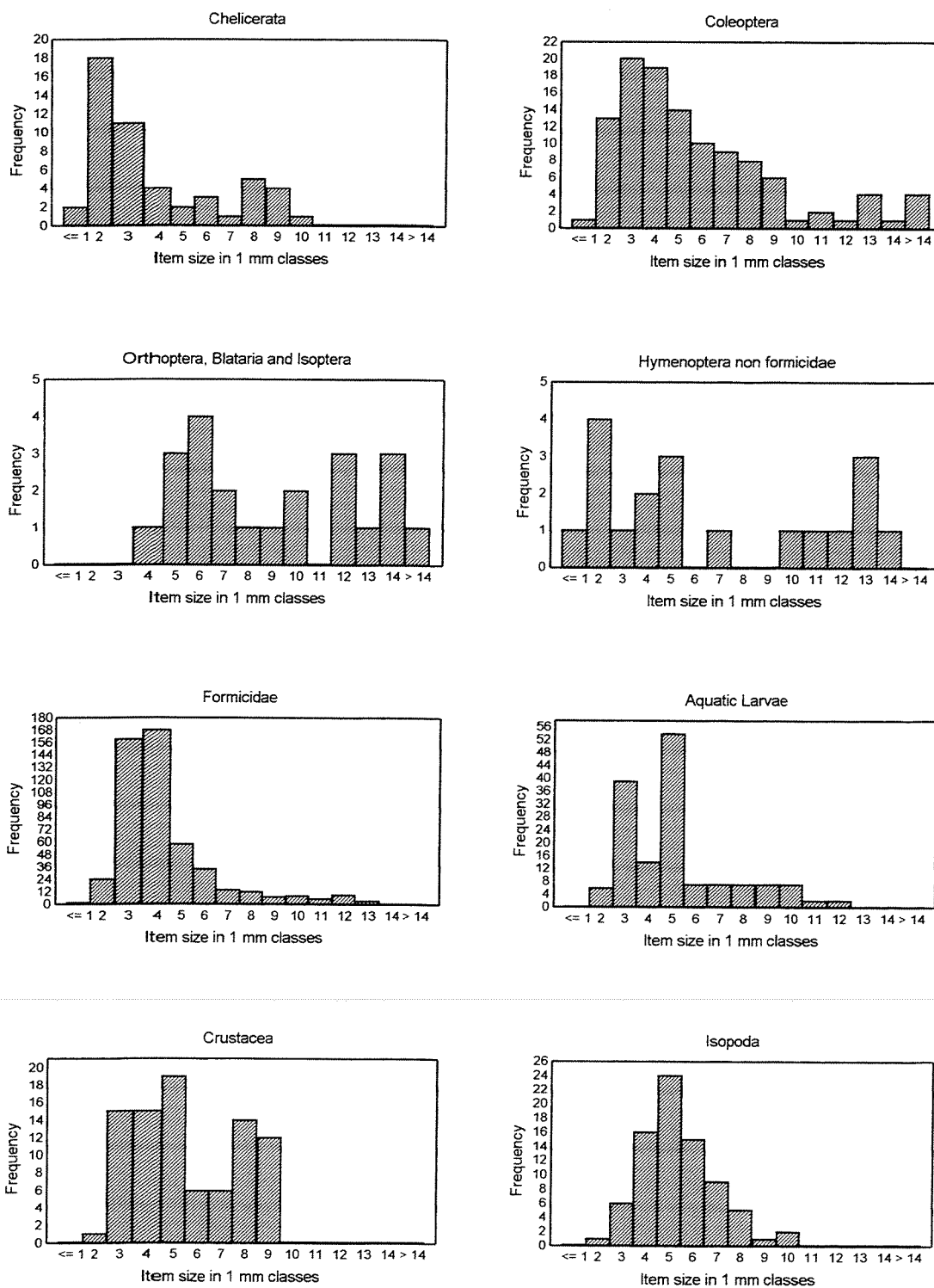


Figure 3. Prey item size in 1 mm classes. The items larger than 14 mm are grouped in one class.

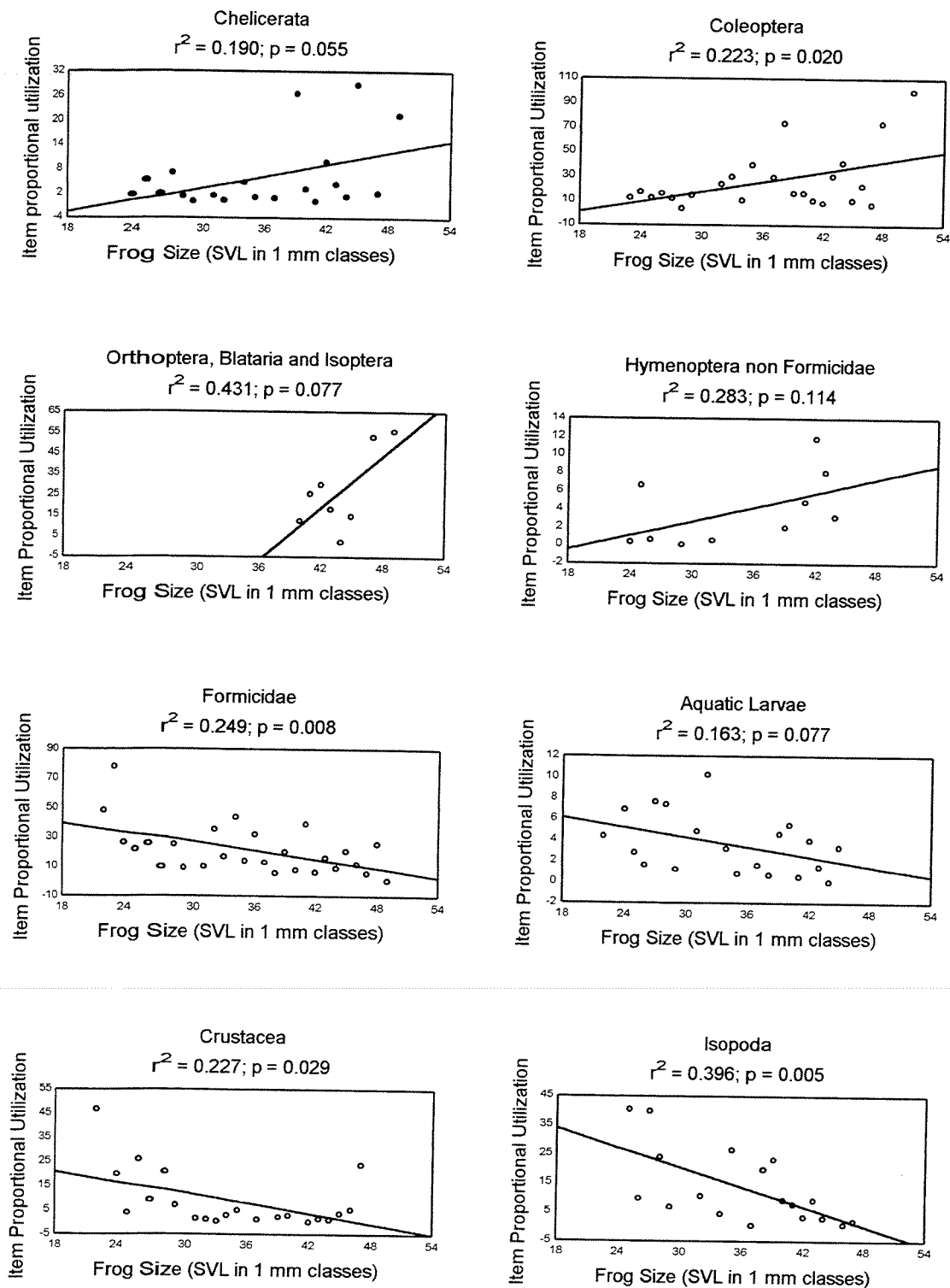


Figure 4. Proportion of prey item used by each 1 mm frog snouth-urostyle length (SUL) classes.

Capítulo IV

Escape behavior in the neotropical frog Hylodes asper

(Anura: Leptodactylidae)

Journal of Herpetology - a ser submetido para publicação

Predation is a very important selective pressure in natural populations, what is reflected in adaptations such as crypsis, protective armor, and mimicry (Edmunds 1974; Curio 1976). But even cryptic animals must make day-to-day and even moment-to-moment decisions regarding when and where to be active (Rowe and Owings 1990). Therefore, animals must be able not only to assess the risks associated with interacting with a predator, but also to make behavioral decisions in ways that minimize these risks (Rowe and Owings 1990). However, studies focusing on real-time assessment and management of risks by prey are underrepresented in the literature (Lima and Dill 1990). One possible way of addressing these questions is to study the factors that influence the distance a prey allows a predator to approach before fleeing, also called escape distance (ED) (Rand 1964). In this study we report field observations of the escape behavior of the Neotropical frog Hylodes asper (Leptodactylidae: Hylodinae), which escape distance differed along the day, and discuss some possible causes of these differences.

Hylodes asper, as most Hylodinae species, presents diurnal

habits and the males are commonly found vocalizing during the whole day (Heyer et al. 1990). The snout-urostyle length (SUL) has varied from 20 mm (juveniles recently metamorphosed) to 50 mm (biggest adult found).

Adults of H. asper are usually found in the Atlantic Rainforest slope streams, vocalizing on rocks of varied sizes, at approximately 0.5 to 1 m above the water. They could also be unusually found on the margin or into the water on the edge of the stream. Juveniles are also found in these streams, but they use to be close to the water, in small rocks, on the edge of the bigger rocks or on the stream margin.

During the summer, when this study was carried out, the weather is frequently clouded and foggy and the air temperature almost does not vary during the day (20-24°C). In the few sunny days, the temperature amplitude is higher (from 22-28°C).

To access the escape distance of the H. asper individuals, the observer approached each animal directly walking at a moderate pace, until the animal tried to escape jumping into the water. Measured to the nearest 10 cm using a plastic tape, the escape distance was the distance between the observer and the animal when the frog began to flee. If the animal escaped only after being touched, the escape distance was registered as 0 cm. A total of 197 fleeing observations were made, 42 in a sunny day and 155 in a clouded and foggy day.

We have used the two-way ANOVA to compare the mean escape

distance along the daytime, in the clouded and sunny days and the interaction of these variables. The same analysis was used to compare the mean escape distance of adults and juveniles and the interaction of this variation along the day.

The escape distance has significativelly varied along the daytime starting bigger in the initial hours of the morning, becoming smaller approaching the midday when it reached the smaller values and rising again during the afternoon (Figure 1, Table 1). This variation was much higher in the sunny day with a mean variation of almost four times (figure 1a), while in the cloudy day this variation was much more smoothed, with a mean variation not bigger than one time (figure 1b). The escape distance have significativelly varied within the interaction of the two variables, daytime and weather (table 1), showing that the daytime curve of escape distance varied with the cloudiness of the day.

Analyzing the animals into two age classes, adults and juveniles (SUL smaller than 39 mm) the mean escape distance varied along the day and have differed in the two age classes (table 2 and 3). However, the escape distance have not varied with the interaction of this two variables (table 2), showing that the daytime curve of escape distance are similar in the two age classes.

There is a very good visual match ~~between~~ the color pattern of H. asper and the rocks from the creeks where it is commonly found. Therefore, crypsis is probably the first anti-

predator strategy employed by this species of frog. There is also a sort of backup strategy, which is to flee, jumping from the perching rock into the water. This strategy is efficient once a predator is able to overcome the initial crypsis strategy and detects a perching frog as a potential prey. However, if the frog flees every time it detects a potential predator, besides the energetic costs of the escape itself and the interruption of other important activities like foraging and searching for mates, this response exposes the frog to the predator for a couple of seconds, and may actually increase the predation risk if it is taken at the wrong moment. The shift from one strategy to the other is very critical, and factors like the physiological state of the frog must be very important. As ectotherm vertebrates, frogs have their motor performance declined with temperature (Lillywhite 1987; Bennet 1980; Heckrotte 1967). Hence, under lower temperatures, frogs would tend to presents a slower escape response, and therefore it would be easier for a predator to capture the frog. In this case, frogs would be expected to be more cautious, fleeing earlier. This seems to be the case in our data, where the escape distance was greater during the earlier hours of the sunny morning, what in that area uses to be the coldest time of the day. It declined along the day, increasing again after the midday, that uses to be the hottest period in the study area. In the cloudy day, with less sun light and smaller temperatures, the escape distance of the frogs have varyied in

the same manner but in a reduced amplitude, varying less dramatically. Many studies have demonstrated the influence of temperature on the defensive behavior of a variety of ectotherm vertebrates. Prior and Weatherhead (1994), studying the rattlesnake Sistrurus c. catenatus, showed that warmer snakes were more likely to rattle and/or flee than cooler snakes. Snakes are also more aggressive when tested at a lower temperature (Arnold and Bennet 1984; Schieffelin and de Queiroz 1991), also striking with higher velocity, greater accuracy, and less hesitation (Rowe and Owings 1990). Lizards like Anolis lineatopus also tend to flee sooner as the temperature decreases (Rand 1964). Nonetheless, we can not rule out the influence of other factors on the variation of the escape distance, like an increasing in the importance of the perch to foraging or finding mates during the midday.

Literature Cited

- Arnold, S.J. and Bennett, A.F. 1984. Behavioural variation in natural populations. III: antipredator displays in the garter snake Thamnophis radix. Animal Behavior. 32: 1108-1118.
- Bennet, A.F. 1980. The thermal dependence of lizard behaviour. Animal Behavior 28: 752-762.
- Curio, E. 1976. The Ethology of Predation. Springer-Verlag, New York.
- Edmunds, M. 1974. Defense in Animals. Longman Group Limited, New York.
- Heckrotte, C. 1967. Relations of body temperature, size, and crawling speed of the common garter snake, Thamnophis s. sirtalis. Copeia 1967: 759-763.
- Heyer, W. R., Rand, S. A., Cruz, C. A. G., Peixoto, O. L. & Nelson, C. E. 1990. Frogs of Boracéia. Arq. Zool., São Paulo 31: 231-410.
-
- Lillywhite, H.B. 1987. Temperature, energetics, and physiological ecology. Pp. 422-477. In Siegel, R.A., J.T. Collins and S.S. Novak (Eds.). Snakes: Ecology and Evolutionary Biology. Macmillan, New York.
- Lima, S.L. and Dill, L.M. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. Canadian Journal of Zoology 68: 619-640.
- Prior, K. A. and Weatherhead, P. J. 1994. Response of free-

ranging eastern Massasauga rattlesnakes to human disturbance. Journal of Herpetology 28: 255-257.

Rand, A.S. 1964. Inverse relationship between temperature and shyness in the lizard Anolis lineatopus. Ecology 45: 863-864.

Rowe, M.P. and Owings, D. H. 1990. Probing, assessment, and management during interactions between ground-squirrels and rattlesnakes. 1. Risks related to rattlesnake size and body-temperature. Ethology 86: 237-249.

Schieffelin, C.D. and de Queiroz, A. 1991. Temperature and defense in the common garter snake: warmer snakes are more aggressive than cold snakes. Herpetologica 47: 230-237.

Table 1. Two-way ANOVA comparing the mean escape distance along the daytime and with the cloudiness of the observed days.

Variable	DF	F	p
Hour	6	8.739	<0.001
Weather	1	3.246	0.073
Hour x Weather	6	3.535	0.002

Table 2. Two-way ANOVA comparing the mean escape distance along the daytime and with the observed age class.

Variable	DF	F	p
Hour	9	2.076	0.035
Age	1	7.365	0.007
Hour x Age	9	1.159	0.320

Table 3. Adults and juveniles mean escape distance (m) $\pm$ SE in 1 hour classes along the day.

Hour	Adult			Juvenile		
	n	Mean (m)	SE	n	Mean (m)	SE
6-8	17	0.853	0.143	8	0.488	0.173
8-10	17	0.900	0.096	3	0.333	0.192
10-12	22	0.536	0.112	9	0.356	0.119
12-14	21	0.371	0.063	16	0.381	0.095
14-16	24	0.667	0.068	5	0.500	0.224
16-18	7	0.643	0.146	6	0.350	0.143

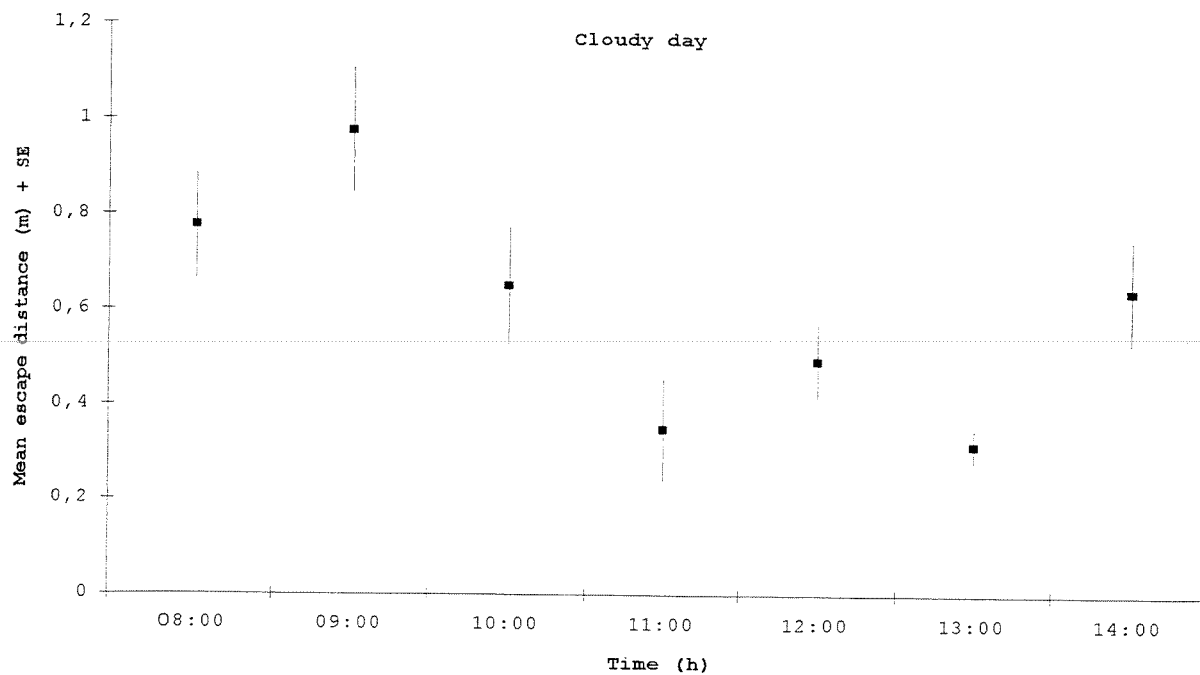
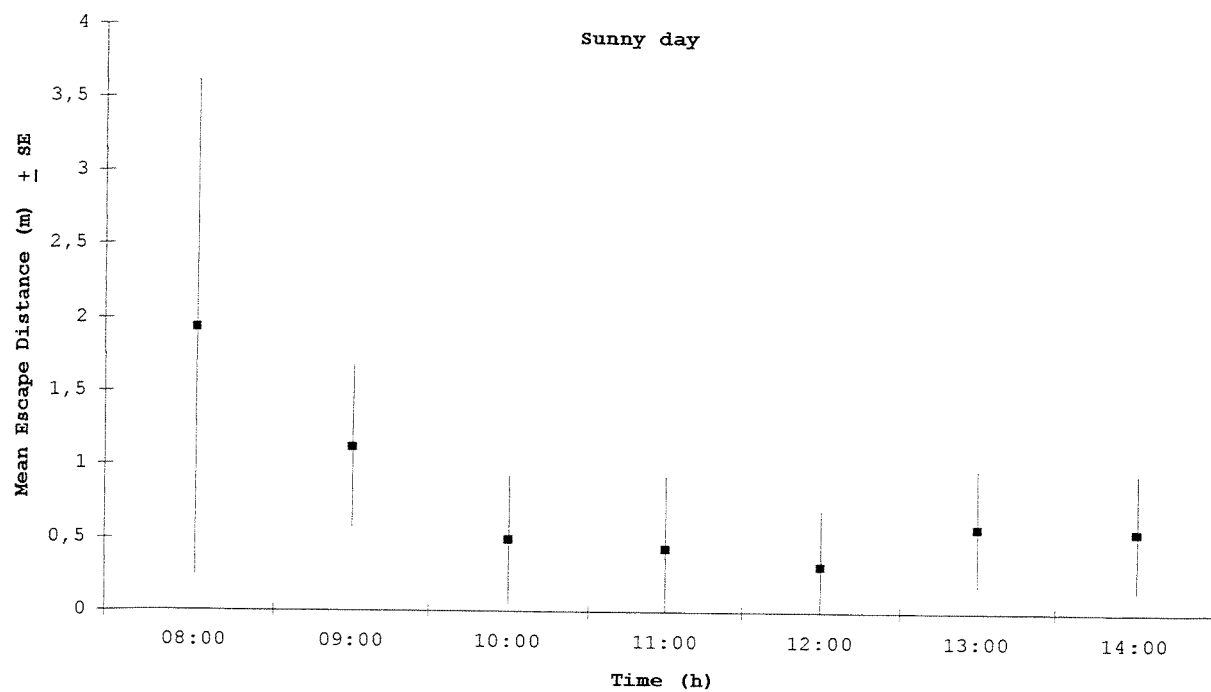


Figure 1. Mean escape distance (m) $\pm$ SE in 1 hour classes during a sunny day (A), $n = 42$; and a cloudy day (B), $n = 155$.

Considerações Finais

A densidade de indivíduos de Hylodes asper foi estimada entre 31 e 54 indivíduos/ha de mata. Esta densidade é baixa se comparada com outros anuros de chão de mata (Giaretta 1999). Entretanto, como H. asper ocorre associada aos riachos, a densidade ecológica (Odum 1983), calculada como a densidade por área de riacho, é mais apropriada para determinar a ocupação de espaço por esta espécie. A densidade ecológica variou entre 0,9 e 1,6 indivíduos/m², valores estes, semelhantes aos encontrados em outras espécies de riachos (Inger e Greenberg 1966). Considerando-se a alta fidelidade ao sítio de vocalização e o comportamento agonístico dos machos à aproximação de outros machos (Haddad e Giaretta 1999), esta densidade pode ser considerada alta, o que poderia ser explicado pela distribuição regular dos machos adultos nas áreas ocupadas dos riachos, entremeadas com indivíduos juvenis e fêmeas, que são mais tolerantes a presença de outros indivíduos (observação pessoal do autor).

A estrutura etária da população variou sazonalmente. No final do ano, antes do período reprodutivo, a população é formada basicamente por indivíduos adultos. Em janeiro, meio da estação reprodutiva, ocorre o recrutamento populacional, quando muitos jovens estão completando a metamorfose. Neste

momento, a população é formada por dois grupos etários, os adultos, que estavam presentes ai há um mês e os jovens recém metamorfoseados. No final de fevereiro, ao final da estação reprodutiva, o número de jovens aumenta consideravelmente, sendo então a população composta basicamente por jovens e alguns adultos que sobreviveram até então. Crescendo numa taxa mais elevada em comparação com a taxa de crescimento dos adultos, os jovens atingem a maturidade sexual em pouco mais de oito meses, constituindo assim a população de adultos de um novo início de estação reprodutiva. Assim, a população é praticamente renovada a cada ano, o que sugere a ocorrência de gerações discretas.

Os anuros, de uma forma geral, têm crescimento contínuo (Daugherty e Sheldon 1982) e esta espécie não é uma exceção. Os adultos continuam a crescer em seu segundo ano de vida, mas numa taxa menor. Enquanto os juvenis crescem no comprimento rostro-anal (CRA) até 1,8 mm por mês, os adultos crescem no mesmo período no máximo 0,4 mm. Dentre os adultos, as fêmeas cresceram mais rapidamente que os machos e atingiram tamanhos superiores no final do ano, tendo até 4 mm a mais que um macho de mesma idade.

Os testes preliminares com o método de lavagem estomacal realizados em anuros de duas espécies invasoras em Campinas, não matou os animais e não deixou resquícios de alimento nos estômagos. Com H. asper, o método funcionou do mesmo modo, não matando os animais e se mostrando mais prático e rápido que

dissecar um animal fixado. Como consequência da utilização deste método, não foi necessário sacrificar os indivíduos de H. asper, o que possibilitou o acompanhamento da população ao longo do ano. Os indivíduos soltos após a coleta do conteúdo estomacal sobreviveram e continuaram se alimentando. Dos 163 indivíduos analisados, 20% foram coletados novamente e destes, 88% continham algum alimento no estômago.

Quanto a alimentação, o mais evidente foi a dieta generalista de H. asper. Sua alimentação foi muito diversificada, sendo constituída por presas terrestres, aquáticas e aéreas de mais de 20 ordens taxonômicas. Hylodes asper ingeriu desde minúsculos ácaros com menos de 0,5 mm até miriápodes com mais de 30 mm de comprimento. Esse resultado já era esperado, pois anuros e lagartos costumam comer qualquer presa que encontrem a sua frente e caibam em sua boca (Pianka 1983). Além disto, esta espécie vive em um dos mais diversos ambientes do planeta: riachos de mata tropical úmida bem preservada (Wilson 1988).

Os animais maiores comeram, em média, maior quantidade de itens maiores, mas continuaram comendo itens pequenos. Além da variação no tamanho da presa, houve grande variação nos tipos de presas utilizadas, à medida que aumentaram em tamanho. Este fato é comum em anuros e lagartos (Wiggins 1992; Lima e Moreira 1993) e geralmente é explicado pela compartimentalização de tamanho dos taxons dos artrópodos, que difere entre os taxa (Shoener e Janzen 1968). Parte da

variação da dieta em função do tamanho de H. asper pode ser explicada por esta compartimentalização. Quanto maior o animal, maior foi o consumo de itens grandes como ortópteros, blatárias, isópteros e himenópteros não formigas, e menor foi o consumo de itens pequenos, como formigas, que estão entre os menores itens da sua dieta. Entretanto, o consumo de algumas categorias em função do tamanho do anuro, não pode ser explicada pela compartimentalização dos tamanhos dos artrópodos. Os quelicerados e os coleópteros, que foram mais consumidos pelas rãs maiores, possuem tamanho intermediário. As larvas aquáticas, os decápodes e os isópodes, que foram menos utilizados pelas rãs maiores, são, em média, maiores que os quelicerados e coleópteros. Esses itens, cuja utilização não se explica por seu tamanho, podem ser divididos em duas categorias: os terrestres e os da interface terra-água. Os juvenis utilizaram proporcionalmente mais itens relacionados a interface terra-água que os adultos, o que deve ocorrer devido a sua maior permanência próximo a água. Portanto, a variação ontogenética da dieta pode ser parcialmente explicada por uma variação nos hábitos e no uso de micro-habitat pelos anuros. Esta variação da dieta em função do habitat já foi observada antes em peixes (Stoner e Livingstone 1984) e em répteis (Clark e Gibbons 1969), sendo este o primeiro registro em anfíbios anuros.

Foi registrado um padrão consistente na distância de fuga tanto no dia ensolarado quanto no dia nublado: pela manhã a

fuga ocorria a uma maior distância, diminuindo próximo ao meio do dia e voltando a aumentar à tarde. Este padrão é semelhante ao registrado em répteis, nas quais a distância de fuga é menor nos horários mais quentes do dia (Bennet 1980). Nos períodos mais quentes, estes animais ectotérmicos estão com a temperatura corporal mais elevada e fisiologicamente mais ativos (Rocha e Bergalo 1990). Consequentemente, quanto mais aquecidos, mais ágeis eles ficam e mais aptos a escaparem de um potencial predador (Hertz et al. 1982). Só então mudam da tática da camuflagem para a de fuga (Johnson 1970). No dia ensolarado este padrão foi mais evidente, com os animais ficando bem mais tolerantes perto do meio dia, enquanto que no dia nublado, apesar de terem apresentado menor distância de fuga neste horário, sua tolerância à aproximação foi bem menor. Esta observação reforça a hipótese do aquecimento do corpo aumentar a tolerância dos animais à aproximação de predadores.

Também foi registrada uma variação da distância de fuga em função da idade do animal. Houve uma menor oscilação da distância de fuga nos juvenis, que se mostraram mais tolerantes que os adultos à aproximação do observador em todas as horas do dia. Esta maior tolerância dos juvenis pode estar relacionada a diversos fatores não exclusivos. Os juvenis podem ser menos hábeis ou menos experientes que os adultos no reconhecimento de um predador em potencial; podem também, pelo menor tamanho em relação aos adultos, não serem usualmente

utilizados por predadores que caminham sobre as pedras do riacho, não sendo muito temerosos à sua aproximação. Por último, por ocuparem microhábitats mais próximos à água que os adultos, podem ter maior facilidade de fuga, o que os tornaria mais tolerantes à aproximação do predador.

Literatura Citada

- Ab'Sáber, A.N. 1977. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. Primeira aproximação. Geomorfologia 52. 22pp.
- Andrewartha, H.G., and L.C. Birch. 1954. A general theory on the numbers of animals on natural populations. Pp. 648-665. *In* The Distribution and Abundance of Animals. University of Chicago Press.
- Arnold, S.J. and Bennett, A.F. 1984. Behavioural variation in natural populations. III: antipredator displays in the garter snake Thamnophis radix. Animal Behavior. 32: 1108-1118.
- Barbault, R. 1984. Strategies de reproduction et demographie de quelques amphibiens anoures tropicaux. Oikos 43: 77-87.
- Bell, G., and J.H. Lawton. 1975. The ecology of the eggs and larvae of the smooth newt, Triturus vulgaris (Linn.). Journal of Animal Ecology 44:393-424.
- Bennet, A.F. 1980. The thermal dependence of lizard behaviour. Animal Behavior 28: 752-762.
- Calef, G.W. 1973. Natural mortality of tadpoles in a population of Rana aurora. Ecology 54:741-758.
- Christian, K.A. 1982. Changes in food niche during postmetamorphic ontogeny of the frog Pseudoacris triseriata, Copeia, 1982: 73-80.
- Clark, D.B., and J.W. Gibbons. 1969. Dietary shifts in the

- turtle Pseudemys scripta (Schoepff) from youth to maturity. Copeia 1969: 704-706.
- Cole, L.C. 1957. Sketches of general and comparative demography. Cold Spring Harbor Symposium of Quantitative Biology 22:1-15.
- Crump, M.L. 1988. Aggression in harlequin frogs: male-male competition and a possible conflict of interest between the sexes. Anim. Behav. 36: 1064-1077.
- Curio, E. 1976. The Ethology of Predation. Springer-Verlag, New York.
- Dash, M.C., and A.K. Hota. 1980. Density effects on the survival, growth rate, and metamorphosis of Rana tigrina tadpoles. Ecology 61:1025-1028.
- Daugherty, C.H., and A.L. Sheldon. 1982. Age-determination, growth and life history of a Montana population of the tailed frog (Ascaphus truei). Herpetologica 38:461-468.
- Davic, R.D. 1991. Ontogenetic shift in diet of Desmognathus quadramaculatus. Journal of Herpetology 25:108-111.
- Dominguez, J.F., and A. Salvador. 1990. Disponibilidad y uso de recursos tróficos por Lacerta schreiberi y Podarcis bocagei en simpatria en una localidad de la Cordillera Cantábrica, España. Amphibia-Reptilia 11:237-246.
- Donnelly, M.A. 1991. Feeding patterns of the strawberry poison frog, Dendrobates pumilo (Anura: Dendrobatidae). Copeia 1991:723-730.
- Duellman, W.E., and L. Trueb. 1994. Biology of Amphibians. The

- Jonhs Hopkins University Press. 670pp.
- Edmunds, M. 1974. Defense in Animals. Longman Group Limited, New York.
- Giaretta, A.A. 1999. Diversidade, densidade de anuros de serrapilheira num gradiente altitudinal na Mata Atlântica costeira. Universidade Estadual de Campinas, PhD Dissertation Thesis..
- Gittins, S. P. 1987. The diet of the common toad (Bufo bufo) around a pond in mid-Wales. *Amphibia-Reptilia* 8:13-17.
- Griffiths, D. 1975. Prey availability and the food of predators. *Ecology* 56:1209-1214.
- Grossman, G.D. 1980. Ecological aspects of ontogenetic shifts in prey size utilization in the bay goby (Pisces: Gobiidae). *Oecologia* 47:233-238.
- Haddad, C.F.B., and A.A. Giaretta. 1999. Visual and acoustic communication in the brasilian torrent frog, Hylodes asper (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica* 55: 324-333.
- Hairston, N.G. 1987. Community Ecology and Salamander Guilds. Cambridge University Press. 230pp.
- Heckrotte, C. 1967. Relations of body temperature, size, and crawling speed of the common garter snake, Thamnophis s. sirtalis. *Copeia* 1967: 759-763.
- Hertz, P.E., R.B. Huey, and E. Nevo. 1982. Fight versus flight: body temperature influences defensive responses of lizards. *Animal Behaviour* 30:676-679.
- Heyer, W.R. 1979. Annual variation in larval amphibian

- populations within a temporary pond. Journal of Washington Academy of Science 69:65-74.
- Heyer, W. R., Rand, S. A., Cruz, C. A. G., Peixoto, O. L. & Nelson, C. E. 1990. Frogs of Boracéia. Arq. Zool., São Paulo 31: 231-410.
- Heyer, W.R., M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.A.C. Hayek, and M.S. Foster. 1994. Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Amphibians. Smithsonian Institution Press. 364 pp.
- Huey, R.B., and E.R. Pianka. 1981. Ecological consequences of foraging mode. Ecology 62:991-999.
- Inger, R.F., and B. Greenberg. 1966. Ecological and competitive relations among three species of frogs (genus Rana). Ecology 47: 746-759.
- Johnson, C.R. 1970. Escape behavior and cammouflage in two sub-species of Sceloporus occidentalis. The American Middland Naturalist 84:280-282.
- Kluge, A.G. 1981. The life history, social organization, and parental behavior of Hyla rosenbergi Boulenger, a nest-building gladiator frog. Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Michigan 160:1-170.
- Krebs, C.J. 1989. Ecological Methodology. HarperCollins Publishers. 654 pp.
- Krzysik, A.J. 1979. Resource allocation, coexistence, and the niche structure of a streambank salamander community. Ecological Monographs 49:173-194.

- Labanick, G.M. 1976. Prey availability, consumption and selection in the cricket frog, *Acris crepitans* (Amphibia, Anura, Hylidae), *Journal of Herpetology* 10:293-298.
- Leclerc, J., and D. Courtois. 1993. A simple stomach flushing method for ranid frogs. *Herpetol. Rev.* 24(4): 142-143.
- Legler, J. M., and L. J. Sullivan. 1979. The application of stomach-flushing to lizards and anurans. *Herpetologica* 35: 107-110.
- Letcher, J. 1992. Intracelomic use of tricaine methanesulfonate for anesthesia of bullfrogs (*Rana catesbiana*) and leopard frogs (*Rana pipiens*). *Zoo Biol.* 11: 243-251.
- Lillywhite, H.B. 1987. Temperature, energetics, and physiological ecology. Pp. 422-477. In Siegel, R.A., J.T. Collins and S.S. Novak (Eds.). *Snakes: Ecology and Evolutionary Biology*. Macmillan, New York.
- Lima, A.P. 1998. The effects of size on the diets of six sympatric species of postmetamorphic litter anurans in Central Amazonia. *Journal of Herpetology* 32:392-399.
- Lima, A.P., and G. Moreira. 1993. Effects of prey size and foraging mode on the ontogenetic change in feeding nich of *Colosthetus stepheni* (Anura: Dendrobatidae). *Oecologia* 95:93-102.
- Lima, S.L. and Dill, L.M. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology* 68: 619-640.

- Magnusson, W.E., L.J. De Paiva, R.M. da Rocha, C.R. Franke, L.A. Kasper, and A.P. Lima. 1985. The correlates of foraging mode in a community of brazilian lizards. *Herpetologica* 41:324-332.
- McAlpine, D. F., and T. G. Dilworth. 1989. Microhabitat and prey size among three species of Rana (Anura: Ranidae) sympatric in eastern Canada. *Can. J. Zool.* 67: 2244-2252.
- Metter, D.E. 1968. The influence of floods on population structure of Ascaphus truei Stejneger. *Journal of Herpetology* 1: 105-106.
- Mittermeier, R.A., Gil, P.R., and Mittermeier, C.G. 1997. Megadiversity: Earth's Biologically Wealthiest Nations. Quebecor Print, Inc.
- Moreira, G., and A.P. Lima. 1991. Seasonal patterns of juvenile recruitment and reproduction in four species of leaf litter frogs in central Amazônia. *Herpetologica* 47: 295-300.
- Murphy, J. B. 1976. Pedal luring in the leptodactylid frog, Ceratophrys calcarata Boulenger. *Herpetologica* 32: 339-341.
- Mushinsky, H.R., J.J. Herbrard, and D.S. Vodopich. 1982. Ontogeny of water snake foraging ecology. *Ecology* 63:1624-1629.
- Nicholson, A.J. 1957. The self-adjustment of populations to change. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* 22:153-172.

- Odum, E.P. 1983. Basic Ecology. Saunders College Publishers.
- Patto, C.E.G. 1998. A simple stomach flushing method for small frogs. *Herpetological Review* 29(3):156-157.
- Peachmann, J.H.K., D.E. Scott, R.D. Semlitsch, J.P. Caldwell, L.J. Vitt, and J.W. Gibbons. 1991. Declining amphibian populations: the problem of separating human impacts from natural fluctuations. *Science* 253:892-895.
- Pengilley R.K. 1971. Calling and associated behaviour of some species of *Pseudophryne* (*Anura*: *Leptodactylidae*). *Journal of Zoology* (London) 163:73-92.
- Perry, G., I. Lampl, A. Lerner, D. Rothenstein, E. Shani, N. Sivan, and L. Werner. 1990. Foraging mode in lacertid lizards: variation and correlates. *Amphibia-Reptilia* 11:373-384.
- Pianka, E.R. 1973. The structure of lizard communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4: 53-74.
- Pianka, E.R. 1983. *Evolutionary Ecology*. Harper & Row.
- Pough F.H., and T.L. Taigen. 1990. Metabolic correlates of foraging and social behavior of dart-poison frogs. *Animal Behaviour* 39:145-155.
- Prior, K. A. and Weatherhead, P. J. 1994. Response of free-ranging eastern *Massasauga* rattlesnakes to human disturbance. *Journal of Herpetology* 28: 255-257.
- Rand, A.S. 1964. Inverse relationship between temperature and shyness in the lizard *Anolis lineatopus*. *Ecology* 45: 863-864.

- Rand, A.S., M.J. Ryan, and K. Troyer. 1983. A population explosion in a tropical tree frog: Hyla rufitela on Barra Colorado Island, Panama. *Biotropica* 15: 72-73.
- Rocha, C.F.D., and H.G. Bergallo. 1990. Thermal biology and flight distance of Tropidurus oreadicus (Sauria Iguanidae) in an area of Amazonian Brazil. *Ethology, Ecology & Evolution* 2: 263-268.
- Rose, B.R. 1976. Habitat and prey selection of Sceloporus occidentalis and Sceloporus graciosus. *Ecology* 57:531-541.
- Ross, S.T. 1978. Trophic ontogeny of the leopard sea robin, Prionotus scitulus (Pisces: Triglidae). *Fish Bull* 76:225-234.
- Rowe, M.P. and Owings, D. H. 1990. Probing, assessment, and management during interactions between ground-squirrels and rattlesnakes. 1. Risks related to rattlesnake size and body-temperature. *Ethology* 86: 237-249.
- Schieffelin, C.D. and de Queiroz, A. 1991. Temperature and defense in the common garter snake: warmer snakes are more aggressive than cold snakes. *Herpetologica* 47: 230-237.
- Schoener, T.W. 1974. Resource partitioning in ecological communities. *Science* 185:27-39.
- Schoener, T.W., and G.C. Gorman. 1968. Some niche difference in three Lesser Antillean lizards of the genus Anolis. *Ecology* 49:819-830.
- Schoener, T.W., and D. Jansen. 1968. Notes on environmental determinants of tropical versus temperate insect size

- patterns. American Naturalist 102:207-224.
- Semlitsch, R.D. 1983. Structure and dynamics of two breeding populations of the eastern tiger salamander, Ambystoma tigrinum. Copeia 1983:608-616.
- Shoop, C.R. 1974. Yearly variation in larval survival of Ambystoma maculatum. Ecology 55:440-444.
- Stebbins, R.C., and N.W. Cohen. 1995. A Natural History of Amphibians. Princeton Academic Press. 316pp.
- Stewart, M.M., and F.H. Pough. 1983. Population density of tropical forest frogs: relation to retreats sites. Science 221:570-572.
- Stoner, A.W., and R.J. Livingstone. 1984. Ontogenetic patterns in diet and feeding morphology in sympatric sparid fishes from seagrass meadows. Copeia 1984:174-187.
- Strüssmann, C., M.B.R. do Vale, M.H. Meneghini, and W.E. Magnusson. 1984. Diet and foraging mode of Bufo marinus and Leptodactylus ocellatus. Journal of Herpetology 18:138-146.
-
- Tamarin, R.H. 1978. Population Regulation. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc. 389pp.
- Toft, C.A. 1981. Feeding ecology of panamanian litter anurans: patterns in diet and foraging mode. Journal of Herpetology 15:139-144.
- Toft, C.A. 1985. Resource partitioning in amphibians and reptiles. Copeia 1985:
- Turner, F.B. 1962. The demography of frogs and toads.

Quaternary Review of Biology 37:303-314.

Tyler, M.J. 1976. Frogs. Collins, Ltd.

Vitt, L. J., and Caldwell, J. P. 1994. Resource utilization and guild structure of small vertebrates in the Amazon forest leaf litter. J. Zool., Lond. 234: 463-476.

Wake, D. B. 1991. Declining amphibian populations. Science 253: 860.

Werner, E.E. 1994. Ontogenetic scaling of competitive relations: size-dependent effects and responses in two anuran larvae. Ecology 75:197-213.

Weygoldt, P. 1989. Changes in the composition of mountain stream frog communities in the Atlantic Mountains of Brazil: frogs as indicators of environmental deteriorations? Studies on Neotropical Fauna and Environment 243:249-255.

Wiggins, D.A. 1992. Foraging success of leopard frogs (Rana pipiens). Journal of Herpetology 26:87-88.

Wilson, E.O. 1988. Biodiversity. National Academy of Sciences.

A Simple Stomach Flushing Method for Small Frogs

CLAUDIO E. G. PATTO

Graduate Program in Ecology, Universidade Estadual de Campinas, C.P. 6109
CEP 13083-970 Campinas, São Paulo, Brazil
e-mail: patto@obelix.unicamp.br

Amphibian dietary studies conventionally employ dissection of fixed animals. This kind of study requires large samples, sometimes difficult to justify in light of amphibian population declines (Wake 1991). Another drawback is the destruction of specimens that could otherwise be useful for other purposes. Moreover, destructive sampling may interfere with population studies by affecting density-dependent processes.

Non-destructive techniques have been used in a variety of dietary studies on large anurans including direct observation (Murphy 1976), stomach eversion, and stomach flushing (Gittins 1987; Legler and Sullivan 1979; McAlpine and Dilworth 1989). These methods, when carried out properly, cause low or no mortality, do not disrupt population processes, and allow individuals to be sampled repeatedly over time. However, dietary studies of small frogs still rely on the collection and dissection of animals (Lima and Moreira 1993; Vitt and Caldwell 1994).

In this report I describe an adaptation of the stomach flushing method for use in small frogs. The method was used to study the diet of the small leptodactylid frog *Hylodes asper* (Müller), an endemic species of the Atlantic forest of southeast Brazil. The range of snout-urostyle length (SUL) of postmetamorphic individuals of this species varies from 20 to 47 mm.

After capture, frogs that were too strong to immobilize with one hand (usually animals >35 mm SUL), were anesthetized for a few seconds in a plastic bag containing cotton soaked with chloroform. In preliminary tests of the procedure, three frogs died after being exposed to chloroform for more than 20 seconds; 10 seconds of exposure seems to be a safe limit. Small individuals were not anesthetized to avoid unnecessary trauma. I used chloroform instead of liquid (Leclerc and Courtois 1993) or injected anesthetic (Letcher 1992) due to the faster recovery rate and because no anesthetic remains on the frog's body.

Anesthetization prevented frogs from using their hands to remove the flushing tubes from their mouths. After anesthetization I introduced a thin flexible silicone tube (Sigma Equipment: 1

mm OD and 0.5 mm ID, 5 cm long) through the mouth into the stomach. When the tube reached the pylorus (the tube could be felt through the wall of the abdomen and the pylorus resisted further introduction), it was retracted approximately 1 mm. I then positioned the animal head down with its mouth pointing into a 100 ml collecting bottle and pumped water through the tube using a 20 ml syringe to wash out the stomach contents. While pumping water, I firmly pressed the lower portion of the abdomen to prevent water from opening the pylorus and allowing the passage of food to the intestine. If I felt additional food through abdominal palpation, I repeated the procedure until all contents had been removed. When the procedure produced no further stomach contents, I repeated it once more to ensure that no food remained.

I toe-clipped study specimens for individual identification. Anesthetized animals were allowed to rest before they were released at the place of capture. In most cases, the frog fled within a few seconds by jumping. After release I preserved the stomach content samples by adding ethanol to the collecting bottle.

During 18 days in the field, I obtained 121 stomach contents from 97 animals. Twenty animals were recaptured, of which 13 were recaptured once and 7 twice. Food was found in the stomachs of 88% of the recaptures (only 3 of the recaptures lacked food). This suggests that the animals were not injured by the procedure and resumed normal feeding activities.

To check if food remained in the frogs' stomachs after flushing, I dissected six animals, three that had been killed in a preliminary collection and three that died during anesthetization trials. None contained food remains in the stomach. I performed the same test on an abundant invader species, *Leptodactylus fuscus* (Schneider). Twenty animals with SUL ranging from 35 to 45 mm were flushed. Food was found in 60% of the animals and no food remains were subsequently found by dissection.

The stomach flushing method can be used on small anurans species as well as larger anurans. Most animals seem to recover after release. The method may be especially useful for dietary analyses of rare, endemic, or protected species, and in studies of population processes or of long term population trends. Furthermore, the whole procedure takes approximately 10 minutes from capture to release, somewhat less than that needed to sample the contents of a fixed animal, and can be performed by one person. The method uses little equipment, but must be performed immediately on freshly captured animals to diminish digestive loss and facilitate prey identification.

Acknowledgments.—I am grateful to Gabriela W. Chaves who gave fundamental logistic support to the field work, and to W. W. Benson, M. A. Schlaepfer, C. Dall'Aglio-Holvorcem, P. R. Holvorcem, M. R. Pie, and M. Orr who patiently contributed with helpful comments on the manuscript. I am also grateful to A. A. Giaretta for informing me of the use of the stomach eversion method. This work has been supported by a graduate fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

LITERATURE CITED

- GITTINS, S. P. 1987. The diet of the common toad (*Bufo bufo*) around a pond in mid-Wales. *Amphibia-Reptilia* 8:13–17.
- LECLERC, J., AND D. COURTOIS. 1993. A simple stomach flushing method for ranid frogs. *Herpetol. Rev.* 24:142–143.
- LEGLER, J. M., AND L. J. SULLIVAN. 1979. The application of stomach-flushing to lizards and anurans. *Herpetologica* 35:107–110.
- LETCHER, J. 1992. Intracoelomic use of tricaine methanesulfonate for anesthesia of bullfrogs (*Rana catesbeiana*) and leopard frogs (*Rana pipiens*). *Zoo Biol.* 11:243–251.
- LIMA, A. P., AND G. MOREIRA. 1993. Effects of prey size and foraging mode on the ontogenetic change in feeding niche of *Colostethus stephensi* (Anura: Dendrobatidae). *Oecologia* 95:93–102.
- MCALPINE, D. F., AND T. G. DILWORTH. 1989. Microhabitat and prey size among three species of *Rana* (Anura: Ranidae) sympatric in eastern Canada. *Can. J. Zool.* 67:2244–2252.
- MURPHY, J. B. 1976. Pedal luring in the leptodactylid frog, *Ceratophrys calcarata* Boulenger. *Herpetologica* 32:339–341.
- VITT, L. J., AND CALDWELL, J. P. 1994. Resource utilization and guild structure of small vertebrates in the Amazon forest leaf litter. *J. Zool., Lond.* 234:463–476.
- WAKE, D. B. 1991. Declining amphibian populations. *Science* 253:860.