

# ASPECTOS REPRODUTIVOS DE *Dendropsophus minutus* (PETERS, 1872) NO MUNICÍPIO DE VIÇOSA, MINAS GERAIS

Eliana Faria de Oliveira<sup>1</sup>  
Renato Neves Feio  
Sérgio Luis Pinto da Matta<sup>2</sup>

## RESUMO

A biologia reprodutiva de machos de *Dendropsophus minutus* foi estudada em Viçosa, Minas Gerais, no período de fevereiro de 2005 a janeiro de 2006. Procurou-se estabelecer o ciclo reprodutivo da espécie através da análise conjunta da histologia dos testículos e dos aspectos reprodutivos observados em campo, como distribuição temporal e espacial da espécie, abundância de machos em vocalização, casais em amplexo, desovas, e presença de formas larvais, juvenis e adultas. Vocalizações foram observadas ao longo de todo o período experimental, enquanto formas juvenis foram avistadas de setembro a abril. Nenhum casal em amplexo, nem desovas e girinos foram visualizados. Áreas recobertas por vegetação aquática e áreas marginais com gramíneas constituíram os principais sítios reprodutivos da espécie. Machos de *D. minutus* apresentaram variações anuais significativas no comprimento corporal, peso corporal, massa gonadal e no índice gonadossomático. Espermátides e espermatozoides foram observados nos túbulos seminíferos em todos os meses do ano, mostrando sincronia na atividade testicular. A partir da histologia dos testículos e dos aspectos reprodutivos observados em campo, podemos concluir que *D. minutus* possui ciclo reprodutivo prolongado, com maior potencial reprodutivo entre os meses de junho e dezembro.

**Palavras-chave:** Anura, Hylidae, *Dendropsophus minutus*, Reprodução.

## ABSTRACT

REPRODUCTIVE ASPECTS OF *Dendropsophus minutus* (PETERS, 1872) IN THE MUNICIPALITY OF VIÇOSA, MINAS GERAIS STATE

The reproductive biology of male *Dendropsophus minutus* was studied in Viçosa, Minas Gerais, from 2005 February to 2006 January. This study aimed to establish the reproductive cycle of the specie through a combined analysis of testicular histology and field observations, such as temporal and spatial distribution of specie, abundance of calling males, occurrence of amplexant pairs, spawning, and presence of larval, juveniles, and adult forms. Calls were detected during all the experimental period while juvenile forms were visualized from September to April. During this study neither amplexant pairs nor spawning and tadpole were visualized. Areas covered by aquatic vegetation as well as the border areas around the dam were the most used location for the specie's reproduction.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Av. P. H. Rolfs, s/n. CEP 36570-000 Viçosa, MG.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Av. P. H. Rolfs, s/n. CEP 36570-000 Viçosa, MG. E-mail: smatta@ufv.br

Males of *D. minutus* showed annual variations in body length, body weight, gonadal mass and gonadosomatic index. Spermatids and spermatozoa were observed monthly in the seminiferous tubules, showing the continue pattern of reproduction. Based in testicular histology combined to reproductive field aspects we conclude that *D. minutus* have a prolonged reproductive cycle and peak of reproduction between June and December.

**Key words:** Anura, Hylidae, *Dendropsophus minutus*, Reproduction.

## INTRODUÇÃO

A distribuição dos anfíbios compreende todas as regiões tropicais e temperadas da Terra, com exceção de ilhas oceânicas distantes, incluindo também as tundras subárticas (Segalla & Langone, 2004). No mundo, são conhecidas mais de 5900 espécies de anfíbios, e aproximadamente 5.200 dessas espécies pertencem à ordem Anura (Frost *et al.*, 2006). As florestas tropicais abrigam as maiores diversidades de espécies conhecidas (Bertoluci, 1998; Duellman, 1999). O Brasil é um dos países de maior biodiversidade de anfíbios anuros do mundo, abrigando mais de 700 espécies (SBH, 2005), 60% delas endêmicas.

Os anfíbios anuros estão entre os vertebrados que apresentam maior diversidade de modos de reprodução (Duellman & Trueb, 1994; Haddad & Prado, 2005), desde espécies de hábitos mais generalizados, cujos ovos são depositados diretamente na água, até espécies com modos de reprodução mais especializados, inclusive em ambientes terrestres (Haddad & Prado, 2005; Pombal Jr. & Haddad, 2005).

As estratégias reprodutivas de anuros derivam da combinação de atributos morfológicos, fisiológicos e comportamentais, adaptados a certas condições ambientais (Pombal Jr. & Haddad, 2005). Embora muitas espécies possam reproduzir ao longo do ano, a umidade relativa do ar, as chuvas e a temperatura são importantes fatores abióticos para a atividade reprodutiva dos anuros (Donnelly & Guyer, 1994; Pombal Jr. *et al.*, 1994), bem como o vento e a luminosidade (Bellis, 1962). Nos trópicos, a chuva é o principal fator abiótico a determinar a atividade reprodutiva dessas espécies (Duellman & Trueb, 1994), afetando a época e a duração do período reprodutivo (Galatti, 1992; Donnelly & Guyer, 1994) e estabelecendo, de certa forma, uma sazonalidade reprodutiva (Cardoso & Martins, 1987).

Wells (1977) considerou dois padrões temporais de comportamento reprodutivo em anuros: o explosivo e o

prolongado. A reprodução explosiva estende-se por poucos dias, ao passo que a prolongada dura várias semanas. Segundo Wells (1977), esses padrões de comportamento influenciam as estratégias reprodutivas adotadas pelas populações de anuros, que podem ser: “estratégia do macho vocalizador” (Pombal Jr. & Haddad, 2005), “estratégia do macho satélite” (Haddad, 1991b) ou “estratégia de procura ativa por fêmeas” (Haddad, 1991a), sendo a primeira a mais difundida entre as espécies de anuros (Pombal Jr. & Haddad, 2005).

Os sinais acústicos atuam como principal mediador de interações sociais em anfíbios anuros (Wagner Jr., 1989), sendo utilizados na defesa de recursos e territorialidade (Bastos & Haddad, 2002) e, de certa forma, constituindo o principal aspecto da biologia reprodutiva, já que, para a maioria das espécies, é a partir da vocalização que ocorre a formação de casais (Abrunhosa, 2005). Durante a época reprodutiva de muitas espécies de anuros, centenas de machos agregam-se em coro em determinadas áreas (Bastos & Haddad, 1996, 1999), com a finalidade de atrair fêmeas ao seu território para o acasalamento.

Embora a vocalização esteja principalmente relacionada à atividade reprodutiva, algumas espécies podem vocalizar sem que estejam reproduzindo (Pombal Jr., 1997). A partir do estudo das variações anuais da morfologia e do estágio de desenvolvimento das estruturas gonadais, pode-se melhor delinear o ciclo reprodutivo e caracterizar a biologia reprodutiva das espécies.

Existem poucas pesquisas sobre órgãos e estruturas que constituem o sistema reprodutivo de anfíbios machos, especificamente de animais de áreas neotropicais, como o Brasil (Oliveira *et al.*, 2002). Díaz-Páez & Ortiz (2001) observaram que os padrões reprodutivos estão correlacionados diretamente com condições climáticas prevalentes, e mudanças na temperatura e no fotope-

ríodo estimulam a gametogênese, e estabelecem ciclos reprodutivos contínuos e descontínuos (Jorgensen, 1992).

Tendo em vista a magnitude da diversidade de espécies de anuros e a escassez de informações sobre espécies neotropicais (Duellman & Trueb, 1994), este estudo teve como objetivo principal analisar aspectos reprodutivos de *Dendropsophus minutus* (Peters, 1872), pequeno hilídeo comum no município de Viçosa, Minas Gerais, procurando estabelecer o ciclo reprodutivo da espécie através da análise conjunta da histologia dos testículos e aspectos reprodutivos observados em campo, no período de um ano.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma represa artificial permanente situada na Mata da Biologia, no município de Viçosa, região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais. Viçosa está localizada no sudeste do estado, uma região caracteristicamente montanhosa, inserida no bioma da Mata Atlântica, cujo clima é do tipo Cwa (mesotérmico, úmido com verões chuvosos e invernos secos), segundo a classificação de Köppen, apresentando déficit hídrico no período de maio a setembro e excedente de precipitação entre dezembro e março (Golfari, 1975). As médias anuais de precipitação pluviométrica, temperatura e umidade relativa do ar foram, respectivamente, 1.405 mm, 20°C e 83% durante o período amostral.

A Mata da Biologia situa-se no *campus* da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sendo uma floresta estacional semidecidual, em processo de regeneração natural até os dias atuais, possuindo uma área de aproximadamente 75 hectares (Paula *et al.*, 2002). A represa do Belvedere situa-se a 20°45'27,5"S e 42°51'38,7"W, um ecossistema artificial de aproximadamente 495,06 m<sup>2</sup> de área total (Valença, 1998). As coordenadas do local de coleta foram determinadas utilizando-se um GPS (Garmin, Etrex®) de 12 canais. A represa possui dois pequenos tanques formados por dois afluentes que abastecem a represa principal, cuja comunicação fica interrompida em época de estiagem prolongada. A represa do Belvedere foi construída para o abastecimento de água da UFV, e atualmente se encontra desativada, em estado avançado de assoreamento e quase totalmente recoberta por macrófitas aquáticas durante o ano todo (Valença, 1998). Os ambientes amostrados incluíram a represa permanente em área aberta, os dois pequenos tanques que

abastecem a represa principal e poças temporárias em borda de mata.

As excursões em campo foram realizadas mensalmente, durante 12 meses, de fevereiro de 2005 a janeiro de 2006. A maior parte das observações restringiu-se ao período noturno, entre 18 e 22 horas, período de atividade da maioria das espécies. Para auxiliar a localização dos anfíbios, foram utilizadas lanternas de mão, além de gravador cassete Aiwa tp-460. A identificação da espécie foi feita através da zoofonia e, posteriormente, pela coleta de alguns espécimes. Os indivíduos foram capturados manualmente, sendo então acondicionados em sacos plásticos e transportados até o laboratório.

Durante as excursões em campo, foram anotadas informações sobre as distribuições temporal e espacial de *D. minutus*. A distribuição temporal foi analisada em uma escala mensal. Os critérios utilizados para definir a temporada reprodutiva foram: abundância de machos vocalizando, casais em amplexo, desovas, e presença de formas larvais, juvenis e adultas. A partir da densidade de machos em atividade de vocalização, foi feito um escore da abundância, com densidade baixa ( $n \leq 10$ ), média ( $10 < n < 20$ ) ou alta ( $n \geq 20$ ). O padrão temporal reprodutivo foi definido com base no tempo gasto em atividades reprodutivas pela espécie, segundo Wells (1977).

A distribuição espacial foi avaliada a partir da ocupação de microambientes selecionados pela espécie. A represa do Belvedere possui microambientes fisicamente diferenciados, desde áreas abertas de gramíneas, áreas com vegetação herbácea, arbustiva e/ou arbórea, até áreas recobertas por vegetação aquática. A partir da definição do microambiente ocupado e dos comportamentos reprodutivos observados em campo (abundância de machos vocalizando, casais em amplexo, desovas e presença de formas larvais e juvenis), pode-se inferir quais microambientes foram utilizados por *D. minutus* como sítio reprodutivo.

Os animais capturados foram encaminhados ao Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV e submetidos à eutanásia para tomada de dados biométricos. Após analgesia em baixa temperatura, os animais foram eutanasiados por imersão total em formaldeído 10% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,4. Posteriormente, o comprimento corporal do rostró a cloaca (CC, em cm) e a massa corporal (MC, em g) foram obtidos para cada espécime. Para análise das gônadas, os espécimes foram seccionados na região ventral, os testículos foram retirados e pesados para se obter a massa gonadal (MG, em g). Para aquisição dos dados biométri-

cos, foram utilizados um paquímetro de precisão 0,1 mm e uma balança analítica (0,0001 g). Todo material retirado dos animais foi refixado como recomendado por Karnovsky.

A partir dos dados biométricos, foi calculado o índice gonadossomático (IGS) utilizando-se a seguinte expressão:  $IGS = (MG/MC) \times 100$ . O IGS representa a porcentagem da massa corporal alocada em gônada.

Para análises em microscopia de luz, os testículos foram desidratados em série etanólica crescente e incluídos em glicolmetacrilato (Historesin®, Leica). Cortes de 4 µm, obtidos em micrótomo rotativo com navalha de vidro, foram montados em lâmina de vidro e corados com azul de toluidina-borato de sódio 1%. Cada lâmina foi analisada utilizando-se microscópio de luz Olympus CB40, procurando ressaltar a morfologia testicular, bem como a presença de espermatozóides e espermátides nos túbulos seminíferos. A presença de espermatozóide nos ductos espermáticos também foi anotada. Foram considerados maduros machos com saco vocal desenvolvido e evidente e/ou com espermatozóides nos túbulos seminíferos. A partir desses dados, foi montada uma tabela de classificação, com valores de 1 a 5, indicando número muito baixo, baixo, médio, alto e muito alto, respectivamente, de espermatozóides e de espermátides nos túbulos seminíferos. Para a análise dos ductos espermáticos, foi feito um escore de 0 (ausente), 1 (ducto presente sem espermatozóide) e 2 (ducto presente com espermatozóide). Em seguida, foram feitas fotomicrografias obtidas a partir de fotomicroscópio Olympus AX70.

Após o procedimento histológico, os animais foram conduzidos ao Museu de Zoologia “João Moojen de Oliveira” da UFV e depositados na Coleção Herpetológica Científica.

Os dados biométricos e os dados histológicos foram distribuídos mensalmente e analisados utilizando-se o software Statistica for Windows, by Statsoft para a comparação das médias. Foi utilizado o teste de Duncan ( $p < 0,05$ ) para analisar as variáveis biométricas e histológicas.

Os dados relativos à precipitação pluviométrica, temperatura média do ar, umidade relativa do ar e fotoperíodo foram obtidos a partir dos registros da Estação Meteorológica do Departamento de Engenharia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias da UFV, localizada na *campus* da UFV.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Distribuição Temporal

Machos de *D. minutus* foram observados em vocalização ao longo de todo o período experimental (Figura 1), com maior número de machos vocalizando no período de fevereiro a agosto de 2005. A estratégia reprodutiva do macho vocalizador foi a mais ocorrente, sendo a do macho satélite também observada em diversas ocasiões, como relatado por Pombal Jr. & Haddad (2005).

Formas juvenis foram observadas entre setembro e abril, com inúmeros jovens nos meses de fevereiro e março (Figura 1). Segundo Eterovik & Sazima (2004), o desenvolvimento larvário em *D. minutus* parece durar cerca de três meses, indicando, neste caso, os meses de novembro e dezembro como preferenciais para a reprodução. Durante o estudo, nenhum casal em amplexo, nem desovas e girinos foram visualizados.

A represa do Belvedere, em função da sua pequena dimensão, é influenciada quase imediatamente pelas mudanças nos fatores climatológicos (Valença, 1998). No período de novembro a março, os índices pluviométricos mensais estiveram acima de 135 mm, enquanto, nos meses de abril a outubro, esses índices permaneceram abaixo de 70 mm (Figura 2). Os meses de maio a setembro apresentaram as menores temperaturas médias mensais, com valores abaixo de 20°C, enquanto os meses restantes tiveram temperaturas mais elevadas, acima de 20°C (Figura 2). A umidade relativa do ar sofreu pouca oscilação ao longo do estudo, variando de 74,44% a 89,35% de outubro e maio, respectivamente, e apresentando média anual de 83%. Os maiores fotoperíodos são observados de outubro a fevereiro, com pico em dezembro (Figura 2). Dessa forma, Viçosa apresentou dois períodos distintos, um mais quente e úmido e outro mais frio e menos úmido.

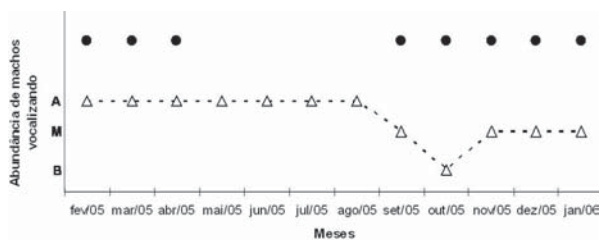
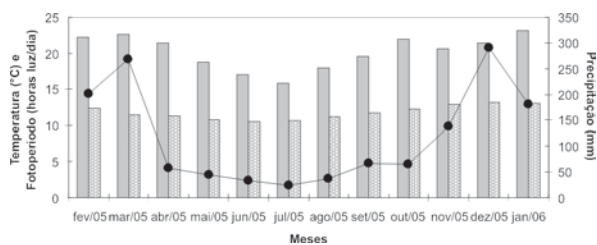


Figura 1. Representação gráfica da temporada reprodutiva de *D. minutus*, de acordo com a abundância de machos em vocalização (triângulo), com densidades alta (A), média (M) e baixa (B) e presença de formas juvenis (círculo) ao longo do ano.



**Figura 2.** Representação gráfica das variações mensais de temperatura e fotoperíodo (barras) e precipitação pluviométrica (linha) em Viçosa, Minas Gerais, durante o período experimental.

O padrão reprodutivo de algumas espécies parece estar relacionado a fatores intrínsecos à área de estudo (Toledo *et al.*, 2003). Fatores abióticos, como a umidade relativa do ar, chuva e temperatura, exercem importante influência sobre a atividade reprodutiva dos anfíbios anuros (Donnelly & Guyer, 1994; Pombal Jr. *et al.*, 1994). Em regiões sazonais, a maioria das espécies se reproduz no período quente e úmido (Donnelly & Guyer, 1994; Rossa-Feres & Jim, 1994), enquanto, em regiões onde não há sazonalidade, as espécies tendem a se reproduzir ao longo do ano (Crump, 1974).

Durante a coleta regular de dados, foi observado que a maioria das espécies que ocorre na represa do Belvedere cessou a vocalização durante o período em que *D. minutus* esteve em alta atividade, possivelmente devido à queda gradual da temperatura, ao índice pluviométrico e ao fotoperíodo. Não é incomum, especialmente em áreas tropicais, encontrar anuros reproduzindo-se ao longo do ano, mesmo em áreas sazonais (Barreto & Moreira, 1996), provando que sítios favoráveis para reprodução estão disponíveis ao longo do ano (Prado & Uetanabaro, 2000). Tal fato foi observado para *D. minutus*, espécie frequentemente encontrada em vários meses do ano (Benarde & Kokubum, 1999; Bertoluci & Rodrigues, 2002; Pombal Jr., 1997; Pombal Jr. & Haddad, 2005) e com grande adaptabilidade a ambientes antropizados, como a represa do Belvedere.

No período de setembro a janeiro, as condições climáticas apresentaram-se mais adequadas para atividade reprodutiva, com temperaturas mais altas e índices pluviométricos mais concentrados. Porém, nesse período houve diminuição na densidade e na atividade de vocalização dos machos de *D. minutus*. O número de formas jovens observadas também diminuiu. Provavelmente, o grande número de espécies em vocalização, bem como a sobreposição temporal e espacial, associada ao aumento da competição interespecífica e a interferência acústica, foram fatores que exerceram certa influência na atividade reprodutiva de *D. minutus* durante esses meses.

Assim, *D. minutus* apresentou temporada reprodutiva prolongada, a estratégia mais comum, principalmente em espécies tropicais, segundo Wells (1977).

### Distribuição Espacial

*D. minutus* ocupou áreas abertas com gramíneas próximas à margem, áreas recobertas com vegetação aquática, áreas com vegetação herbácea imersa e até mesmo áreas com vegetação herbáceo-arbustiva próximas à margem. Benarde e Kokubum (1999), Pombal Jr. (1997) e Toledo *et al.* (2003) observaram os mesmos microambientes como sítio de vocalização para *D. minutus*. Porém, áreas recobertas por vegetação aquática (*Eichornia* sp. e *Salvinia* sp.) e áreas abertas com gramíneas próximas à margem foram preferencialmente mais ocupadas, sendo esses microambientes considerados como os principais sítios reprodutivos de *D. minutus*.

Em áreas abertas, ao contrário de áreas de mata, o número de espécies é maior que o número de microambientes disponíveis como sítios de vocalização (Cardoso *et al.*, 1989). A represa do Belvedere ocupa área aberta com borda de mata, onde podem ser encontradas espécies típicas dos dois ambientes. Dessa forma, parece haver maior número de espécies do que microambientes para vocalização. Com a chegada da estação quente e úmida, foi observada sobreposição espacial de *D. minutus* com outras espécies de hílídeos, como *Dendropsophus elegans* (Wied-Neuwied, 1824) e *D. decipiens* (Lutz, 1925). Tais espécies ocupavam outros sítios reprodutivos durante a outra estação ou não estavam em atividade durante esse período. Essa sobreposição espacial possivelmente teve influência na distribuição temporal de *D. minutus*, já que foi observada diminuição no número de machos em vocalização no mesmo período.

As distribuições espaciais e temporais dos anuros são importantes aspectos para o modo de vida dos indivíduos e devem ter evoluído de modo a minimizar as interferências entre as diversas espécies que coexistem em determinada localidade (Cardoso, 1986). A partilha espacial inclui a exploração de grande diversidade de microambientes como sítios reprodutivos (Toledo *et al.*, 2003). Esses são utilizados de maneira diferente pelas espécies, sendo atualmente reconhecidas 39 possibilidades para sítios de oviposição e desenvolvimento larvário (Haddad & Prado, 2005). Como a maioria das espécies de anuros, *D. minutus* apresenta o modo reprodutivo mais generalizado e filogeneticamente mais primitivo entre os anuros (Duellman & Trueb, 1994;



Haddad & Prado, 2005), em que os ovos e os girinos, respectivamente, são depositados e se desenvolvem em ambientes lênticos (Bastos *et al.*, 2003; Haddad, 1991a; Pombal Jr. & Haddad, 2005; Toledo *et al.*, 2003).

### Parâmetros Biométricos

Durante as excursões ao campo, foram coletados 62 machos de *D. minutus*. Foram observadas variações significativas ( $p < 0,05$ ) na massa corporal (MC), no comprimento corporal (CC), na massa gonadal (MG) e no índice gonodossomático (IGS) dos machos de *D. minutus* ao longo do ano.

A MC variou entre 0,45 e 0,75 g ( $\bar{x} = 0,58 \pm 0,07$ ), apresentando variações significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias mensais de janeiro, fevereiro e junho, quando MC apresentou os maiores valores mensais em relação aos meses restantes (Figura 3). O CC variou de 1,72 a 2,26 cm ( $\bar{x} = 2,03 \pm 0,11$ ). Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nesse parâmetro entre o mês de novembro ( $\bar{x} = 1,86$ ), que apresentou a menor média mensal, e os meses restantes, exceto maio e julho (Figura 3). A MG dos machos variou de 0,0004 a 0,0031 g ( $\bar{x} = 0,0015 \pm 0,0005$ ). Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) da MG dos machos capturados em outubro ( $\bar{x} = 0,0021$ ) em relação aos capturados em abril ( $\bar{x} = 0,0009$ ) e junho ( $\bar{x} = 0,0010$ ) (Figura 4). Já o IGS apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o mês de outubro ( $\bar{x} = 0,384$ ) e junho ( $\bar{x} = 0,175$ ), quando ocorreram o maior e o menor IGS, respectivamente (Figura 4). Desse modo, outubro foi o mês em que os machos de *D. minutus* apresentaram a maior porcentagem da massa corporal alocada em gônada (IGS) e maior MG, sugerindo alta atividade testicular.

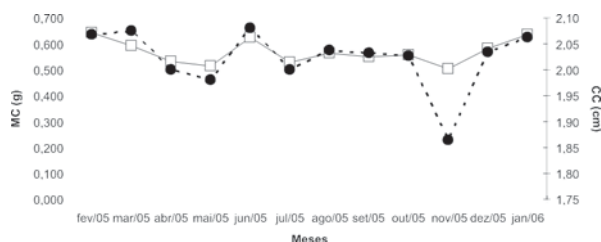
Poucos são os trabalhos que abordam variações biométricas anuais, como Prado & Uetanabaro (2000) com *Lysapsus limellus* Cope, (1862) e Díaz-Páez & Ortiz (2001) com *Pleurodema thaul* (Lesson, 1826). Essas variações anuais são pouco explicadas e esclarecidas.

Díaz-Páez & Ortiz (2001) observaram variações no volume testicular ao longo do ano. Segundo Lofts *et al.* (1972), a massa gonadal é um índice apropriado para demonstrar a atividade testicular em anuros. *D. minutus* apresentou aumento da MG e do IGS no mês de outubro, indicando alta atividade testicular nesse mês caracteristicamente quente e úmido, propício à reprodução.

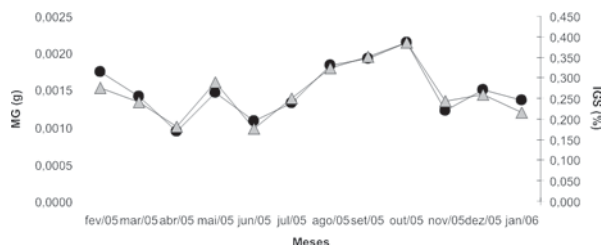
Variações biométricas anuais provavelmente estão relacionadas com condições do habitat, como disponibilidade de recursos alimentares e reprodutivos, variações dos fatores climáticos, condições bióticas, competição intra e interespecífica por recursos.

### Parâmetros Histológicos

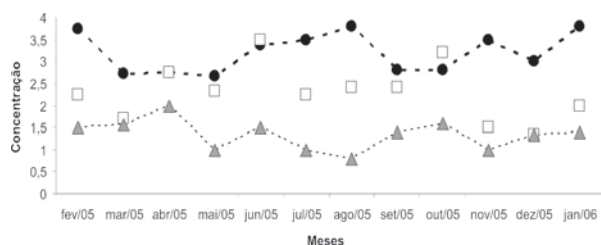
No interior dos túbulos seminíferos foram encontradas, no interior de cistos, células germinativas em diferentes estágios de maturação. As células em estágios mais avançados foram observadas com maior frequência no lúmen tubular ou próximo a ele. Machos de *D. minutus* apresentaram espermátides e espermatozóides nos túbulos seminíferos, e este último também nos ductos espermáticos durante o ano inteiro (Figura 5). Nos períodos de novembro a fevereiro e junho a agosto, foi observada grande concentração de espermátides próximas ao lúmen ou dispostas em feixes no lúmen dos túbulos seminíferos. Nos meses restantes, a concentração de espermátides foi menor, indicando queda na produção de espermatozóides.



**Figura 3.** Representação gráfica da variação mensal da massa corporal (MC) (quadrado) e do comprimento corporal (CC) (círculo) de machos de *D. minutus*.



**Figura 4.** Representação gráfica da variação mensal da massa gonadal (MG) (círculo) e do IGS (triângulo) de machos de *D. minutus* ao longo do ano.

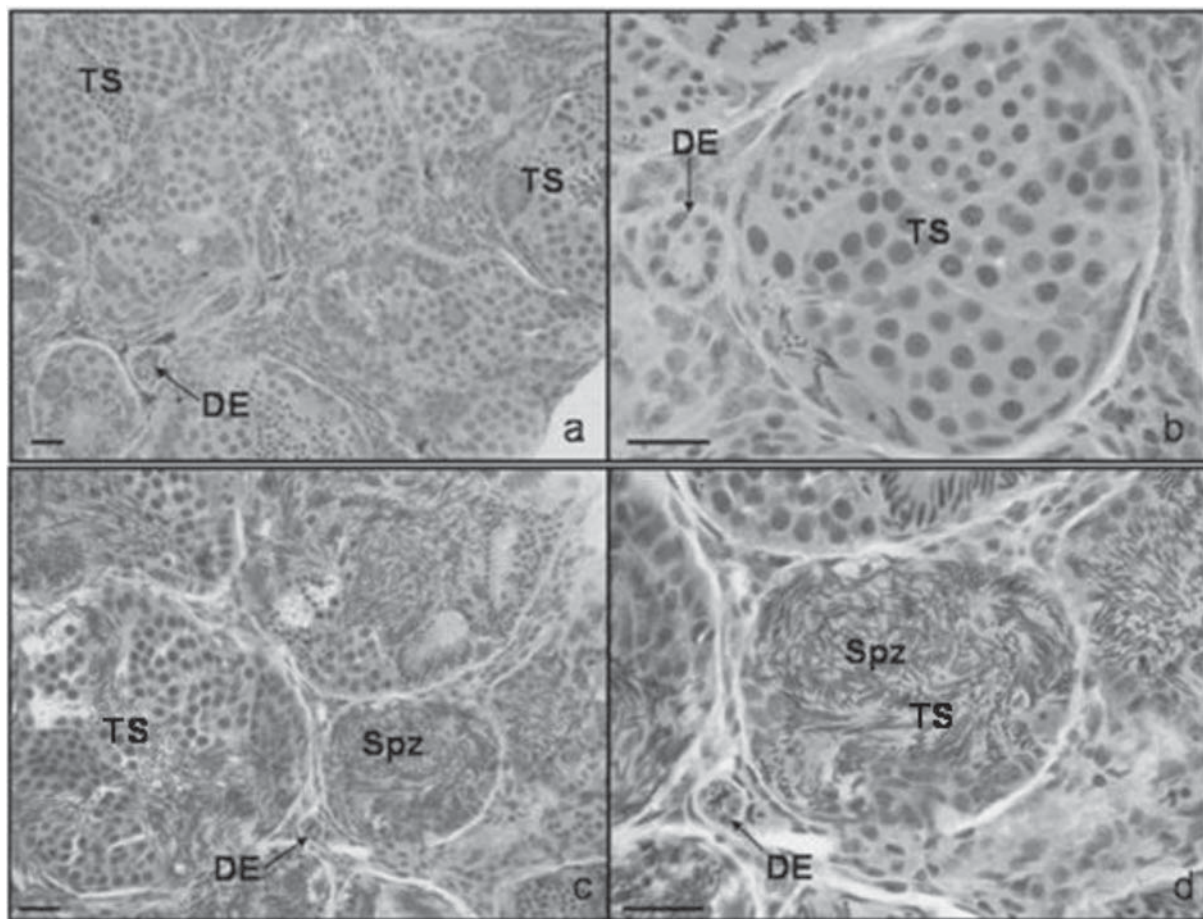


**Figura 5.** Representação gráfica da variação mensal das concentrações de espermátides (círculo), espermatozóides (quadrado) e ductos espermáticos (triângulo) nos testículos de *D. minutus*.

Quanto às concentrações de espermatozoides, estas estiveram altas nos meses de junho e outubro (Figura 6c e d), enquanto nos meses de março, novembro e dezembro diminuíram (Figura 6a e b). Embora os machos capturados em junho tenham apresentado as menores médias de IGS e MG, sugerindo, respectivamente, baixa porcentagem da massa corporal alocada em gônada e pouca atividade testicular, provavelmente em consequência de baixas temperaturas, foram os que apresentaram maior concentração de espermatozoides nos túbulos seminíferos ao longo do ano, indicando capacidade reprodutiva nesse mês ou, então, se preparando para a chegada da estação de reprodução. Os machos capturados em outubro apresentaram as maiores médias de IGS e MG, bem como grande concentração de espermatozoides nos túbulos seminíferos. Assim, a massa testicular e o IGS não foram índices confiáveis para demonstrar a atividade testicular de *D. minutus*, em concordância com o encontrado para *Rana rugosa* (Ko *et al.*, 1998),

ainda que seja para Lofts *et al.* (1972), com *Rana temporaria*, e para Ko *et al.* (1998) para *Rana nigromaculata* e *Rana dybowskii*. Apesar de haver tendências a variações anuais nas concentrações de espermátides e espermatozoides, estas não foram significativas ( $p > 0,05$ ) ao longo do ano.

Díaz-Páez & Ortiz (2001) observaram que os padrões reprodutivos estão correlacionados com condições climáticas prevalentes; assim, a diminuição da temperatura ativa o processo espermiogênico em *P. thaul*. Jorgensen (1992) observou que mudanças na temperatura e fotoperíodo estimulam a gametogênese e estabelecem ciclos contínuos e descontínuos. Contudo, para *D. minutus*, parece não haver correlação entre os fatores climatológicos e a estimulação da espermiogênese, já que os machos apresentaram espermatozoides ao longo do ano todo. Espécies que habitam áreas tropicais, com clima úmido e quente constantemente, exibem ciclos contínuos ou potencialmente contínuos (Jorgensen *et al.*, 1986), que fo-



**Figura 6.** Secções histológicas transversais de testículo de *D. minutus*. (a) e (b) mostram túbulo seminífero (TS) sem espermatozoides e ducto espermático (DE) observados principalmente nos meses de março, novembro e dezembro; (c) e (d) mostram ducto espermático (DE), túbulo seminífero (TS) e espermatozoides (Spz) nos meses de junho e outubro. Barra de escala: 28 $\mu$ m.

ram apresentados por *D. minutus* em Viçosa, região que apresentou condição climatológica atípica durante o período experimental, com ausência do período de estiagem.

A ocorrência de machos de *D. minutus* com espermatozoides nos meses mais frios, quando as vocalizações foram frequentes, pode representar a potencialidade da espécie de se reproduzir mesmo durante o inverno, em períodos curtos com temperaturas mais amenas (Gallardo, 1964; Guix, 1996), mostrando sincronia na atividade testicular.

A ocorrência de machos com espermatozoides, indicando capacidade reprodutiva, não sugere que a espécie esteja exatamente na sua temporada reprodutiva, já que o estágio de maturação das fêmeas é fundamental para sua ocorrência. Embora a espermiogênese seja mantida ao longo do ano, apenas uma parte dos espermatozoides maduros coincidem com o ciclo reprodutivo das fêmeas (Díaz-Páez & Ortiz, 2001). Dessa forma, as fêmeas parecem regular o ciclo reprodutivo da espécie. Além disso, a distribuição temporal das diferentes etapas reprodutivas e etárias (como épocas de vocalização, amplexos, ocorrência de girinos e formas juvenis (na população) pode melhor delinear o ciclo reprodutivo e melhor caracterizar a biologia reprodutiva da espécie, quando comparada com a morfologia e o estágio de desenvolvimento das estruturas gonadais (Melchior et al., 2004). Conforme observado, *D. minutus* se enquadra nessas características, já que apresentou espermatozoides durante todo o ano.

Dessa forma, machos de *Dendropsophus minutus* possuem ciclo reprodutivo prolongado, com maior potencial reprodutivo observado entre os meses de junho e dezembro, período caracterizado por maior massa gonadal (outubro), maiores concentrações de espermatozoides (junho e outubro) e meses preferenciais de reprodução (novembro e dezembro, devido às inúmeras formas juvenis observadas nos meses de fevereiro e março).

## AGRADECIMENTOS

Aos colegas do Museu de Zoologia “João Moojen de Oliveira” da UFV, Carla Cassini, Emanuel Teixeira e Jussara Dayrell, e a todos aqueles que eventualmente participaram dos trabalhos de campo; ao Vinícius Albano e Marcos de Lucca, pelo auxílio nos procedimentos histológicos realizados no Laboratório de Biologia Estrutural da UFV; ao Prof. José Maria Nogueira da Costa, do Departamento de Engenharia Agrícola da UFV, pela disponibilização dos dados climatológicos.

## REFERÊNCIAS

- Abrunhosa PA (2005) Interações sociais em três espécies do grupo de *Scinax ruber* (Anura, Hylidae). Tese de Doutorado. Rio de Janeiro, Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro. 161 p.
- Barreto L & Moreira G (1996) Seasonal variation in age structure and spatial distribution of a savanna larval anuran assemblage in Central Brazil. *Journal of Herpetology*, 30:87-92.
- Bastos RP & Haddad CFB (1996) Breeding activity of the neotropical treefrog *Hyla elegans* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology*, 30:355-360.
- Bastos RP & Haddad CFB (1999) Atividade reprodutiva de *Scinax rizibilis* (Bokermann) (Anura, Hylidae) na Floresta Atlântica, sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16:409-421.
- Bastos RP & Haddad CFB (2002) Acoustic and aggressive interactions in *Scinax rizibilis* (Anura: Hylidae) during the reproductive activity in southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 23:97-104.
- Bastos RP, Motta JAO, Lima LP & Guimarães LD (2003) Anfíbios da Floresta Nacional de Silvânia, Estado de Goiás. Goiânia, Stylo Gráfica e Editora. 82 p.
- Bellis ED (1962) The influence of humidity on wood frog activity. *American Midland Naturalist*, 68:139-148.
- Benarde PS & Kokubum MNC (1999) Anurofauna do Município de Guararapes, Estado de São Paulo, Brasil (Amphibia: Anura). *Acta Biológica Leopoldensia*, 21:89-97.
- Bertoluci J (1998) Annual patterns of breeding activity in Atlantic Rainforest anurans. *Journal of Herpetology*, 32:607-611.
- Bertoluci J & Rodrigues MT (2002) Seasonal patterns of breeding activity of Atlantic Rainforest anurans at Boracéia, Southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 23:161-167.
- Cardoso AJ (1986) Utilização de recursos para reprodução em comunidade de anuros no sudeste do Brasil. Tese de Doutorado. Campinas, Instituto de Biociências, Universidade Estadual de Campinas. 216 p.
- Cardoso AJ & Martins JE (1987) Diversidade de anuros durante o turno de vocalizações, em comunidades neotropicais. *Papéis avulsos de Zoologia*, 36:279-285.
- Cardoso AJ, Andrade GV & Haddad CFB (1989) Distribuição espacial em comunidades de anfíbios (Anura) no Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*, 49:241-249.
- Crump ML (1974) Reproductive strategies in a tropical anuran community. *Miscellaneous Publications of the Museum of Natural History of the University of Kansas*, 61:1-68.
- Díaz-Páez H & Ortiz JC (2001) The reproductive cycle of *Pleurodema thaul* (Anura, Leptodactylidae) in central Chile. *Amphibia-Reptilia*, 22:431-445.
- Donnelly MA & Guyer C (1994) Patterns of reproduction and habitat use in assemblage of neotropical hylid frogs. *Oecologia*, 98:291-302.



- Duellman WE (1999) Distribution patterns of amphibians in South America. In: Duellman WE (Ed.). *Patterns of Distribution of Amphibians: a Global Perspective*. London, The Johns Hopkins University Press. p. 255-328.
- Duellman WE & Trueb L (1994) *Biology of amphibians*. 2nd ed. Baltimore and London, McGraw-Hill. 670 p.
- Eterovik PC & Sazima I (2004) Anfíbios da Serra do Cipó - Minas Gerais - Brasil. Belo Horizonte, Editora Puc Minas. 152 p.
- Frost DR, Grant T, Faivovich J, Bain RH, Haas A, Haddad CFB, Sá RO, Channing A, Wilkinson M, Donnellan SC, Raxworthy CJ, Campbell JA, Blotto BL, Moler P, Drewes RC, Nussbaum RA, Lynch JD, Green DM & Wheeler WC (2006) The Amphibian Tree of Life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 297:1-370.
- Galatti U (1992) Population biology of the frog *Leptodactylus pentadactylus* in Central Amazonian Rainforest. *Journal of Herpetology*, 26:23-31.
- Gallardo JM (1964) Una nueva forma de Pseudidae (Amphibia, Anura) y algunas consideraciones sobre las especies argentinas de esta familia. *Acta Zoológica Lilloana*, 20:193-209.
- Golfari L (1975) Zoneamento ecológico do Estado de Minas Gerais para reflorestamento. Belo Horizonte, Centro de Pesquisa Florestal da Região do Cerrado. Série técnica 3. 65 p.
- Guix JC (1996) Actividad invernal de anuros en tres sierras del sudeste de Brasil. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 7:31-34.
- Haddad CFB (1991a) Ecologia reprodutiva de uma comunidade de anfíbios anuros na Serra do Japi, sudeste do Brasil. Tese de Doutorado. Campinas, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. 154 p.
- Haddad CFB (1991b) Satellite behavior in the Neotropical Treefrog *Hyla minuta*. *Journal of Herpetology*, 25:226-229.
- Haddad CFB & Prado CPA (2005) Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *BioScience*, 55:207-217.
- Jorgensen CB (1992) Growth and reproduction. In: Feder ME & Burggren WW (Eds.). *Environmental physiology of the amphibians*. Chicago, University of Chicago Press. p. 439-466.
- Jorgensen CB, Shakuntala K & Vijayakumar S (1986) Body size, reproduction and growth in a tropical toad, *Bufo melanostictus*, with a comparison of ovarian cycles in tropical and temperate zone anurans. *Oikos*, 46:379-389.
- Ko SK, Kang HM, Im W, Kwon HB (1998) Testicular cycles in three species of Korean frogs: *Rana nigromaculata*, *Rana rugosa* and *Rana dybowskii*. *General and Comparative Endocrinology*, 111:347-358.
- Lofts B, Wellen JJ & Benraad THJ (1972) Seasonal changes in endocrine organs of the male common frog, *Rana temporaria*. *General and Comparative Endocrinology*, 18:344-363.
- Melchioris J, Di-Bernardo M, Pontes GMF, Oliveira RB, Solé M & Kwet A (2004) Reprodução de *Pseudis minuta* (Anura, Hylidae) no sul do Brasil. *Phyllomedusa*, 3:61-68.
- Oliveira C, Zanetoni C & Zieri R (2002) Morphological observations on the testes of *Physalaemus cuvieri* (Amphibia, Anura). *Revista Chilena de Anatomia*, 20:263-268.
- Paula A, Silva AF, Souza AL & Santos FAM (2002) Alterações florísticas ocorridas num período de quatorze anos na vegetação arbórea de uma floresta estacional semidecidual em Viçosa-MG. *Revista Árvore*, 26:743-749.
- Pombal Jr. JP (1997) Distribuição espacial e temporal de anuros (Amphibia) em uma poça permanente na Serra de Paranapiacaba, Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*, 57:583-594.
- Pombal Jr. JP, Sazima I & Haddad CFB (1994) Breeding behavior of the pumpkin toadlet, *Brachycephalus ephippium* (Brachycephalidae). *Journal of Herpetology*, 28:516-519.
- Pombal Jr. JP & Haddad CFB (2005) Estratégias e modos reprodutivos de anuros (Amphibia) em uma poça permanente na Serra de Paranapiacaba, Sudeste do Brasil. *Papéis avulsos de Zoologia*, 45:201-213.
- Prado CPA & Uetanabaro M (2000) Reproductive Biology of *Lysapsus limellus* Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) in the Pantanal, Brazil. *Zoocriaderos*, 3:25-30.
- Rossa-Feres DC & Jim J (1994) Distribuição sazonal em comunidades de anfíbios anuros na região de Botucatu, São Paulo. *Revista Brasileira de Biologia*, 54:323-334.
- SBH (2005) Lista de espécies de anfíbios do Brasil. Sociedade Brasileira de Herpetologia (SBH). Disponível em: <http://www.sbherpetologia.org.br/checklist/anfibios.htm>. Acessado em junho de 2006.
- Segalla MV & Langone JA (2004) Anfíbios. In: Mikich SB & Bérnils RS (Eds.). *Livro Vermelho da Fauna ameaçada no Estado do Paraná*. Curitiba, Instituto Ambiental do Paraná. p. 549-577.
- Toledo LF, Zina J & Haddad CFB (2003) Distribuição Espacial e Temporal de uma Comunidade de Anfíbios Anuros do Município de Rio Claro, São Paulo, Brasil. *Holos Environment*, 3:136-149.
- Valença AR (1998) Estudo da variação sazonal de *Hyaella* Smith, 1874 (Amphipoda, Crustacea) na Represa do Belvedere, UFV, Minas Gerais. Monografia de conclusão de curso. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 35 p.
- Wagner Jr. WE (1989) Social correlates of variation in male calling behavior in blanchard's cricket frog, *Acris crepitans blanchardi*. *Ethology*, 82:27-45.
- Wells KD (1977) The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*, 25:666-693.