



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO -
UNIRIO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS



INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - IBio

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - PPGBio
(BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL)

Dener das Neves da Silva

Girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos: uma abordagem taxonômica e ecológica



Rio de Janeiro

2020

Dener das Neves da Silva

Girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos: uma abordagem taxonômica e ecológica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Biodiversidade Neotropical, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dr^a. Christina Wyss Castelo Branco

Co-orientadora: Dr^a. Ana Maria Paulino Telles de Carvalho e Silva

Rio de Janeiro

2020

S581

Silva, Dener das Neves da
Girinos de riacho do Parque Nacional da Serra
dos Órgãos: uma abordagem taxonômica e ecológica /
Dener das Neves da Silva. -- Rio de Janeiro, 2020.
123

Orientadora: Christina Wyss Castelo Branco.
Coorientadora: Ana Maria Paulino Telles de
Carvalho-e-Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) -
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro,
Especialização em Biodiversidade Neotropical, 2020.

1. Girinos. 2. Chave taxonômica. 3. Morfologia.
4. Guías ecomorfológicas. 5. Quitridiomicose. I.
Branco, Christina Wyss Castelo , orient. II.
Carvalho-e-Silva, Ana Maria Paulino Telles de ,
coorient. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO

Instituto de Biociências - IBIO

Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical) - PPGBIO

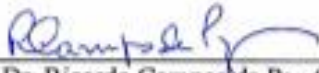
ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 84

Aos Catorze dias do mês de março de dois mil e vinte, às 10:30h, realizou-se na sala 502 do Instituto de Biociências (Av. Pasteur 458), do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, a defesa da dissertação intitulada *Glirinos de Riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos: Uma Abordagem Taxonômica e Ecológica* do Mestrando Dener das Neves da Silva do Mestrado em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical). A presente dissertação foi orientada pela Dra. Christina Wyss Castelo Branco e coorientada pela Dra. Ana Maria Paulino Telles de Carvalho e Silva (Presidente da Banca). A Banca Examinadora foi constituída também pelos membros, a saber: Dr. Sergio Potsch de Carvalho e Silva, Dr. Ricardo Campos da Paz e com suplência da Dra. Joice Ruggeri Gomes e do Dr. Davor Vrcibradic. Após arguir o mestrando e considerar que o mesmo demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização dos dados, a Banca Examinadora houve por bem aprová-lo com conceito A.

Rio de Janeiro, 14 de março de 2020.



Dr. Sergio Potsch de Carvalho e Silva (UFRJ)



Dr. Ricardo Campos da Paz (UNIRIO)



Dra. Ana Maria Paulino Telles de Carvalho e Silva (UNIRIO)
(Presidente da Banca)

Dener das Neves da Silva

**GIRINOS DE RIACHO DO PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS: UMA
ABORDAGEM TAXONÔMICA E ECOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical) da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em 14 de março de 2020.

Banca Examinadora



Dr(a). Ana Maria Paulino Telles de Carvalho e Silva (Presidente da Banca)
(Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO)



Dr(a). Sergio Potech de Carvalho e Silva
(Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ)



Dr(a). Ricardo Campos da Paz
(Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO)

Em memória de Luci Assis da Silva a quem dedico essa singela obra.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a minha família, que sempre me apoiou incondicionalmente e me dão forças para lutar pelos meus sonhos. A minha mãe pela determinação que me inspira. Ao meu pai, pela paixão e grande interesse pelo trabalho que realizo, meu grande motivador. Mesmo sem oportunidades de estudo, sempre me mostraram que a educação era o melhor caminho para seguir. Minha irmã, Juliana, pelo carinho e admiração. E a Nina, por todos os lambeijos e abraços carinhosos após dias extenuantes de trabalho.

Minha companheira, Amanda Marinho, por me dar forças nos momentos difíceis, por acreditar que seria possível chegar, mesmo em dias em que o caminho parecia íngreme e tortuoso. Obrigado por me tornar capaz.

A minha orientadora, Christina Wyss Castelo Branco por aceitar trabalhar ao meu lado e confiar no meu potencial. A minha co-orientadora e grande amiga, Ana Maria Paulino Telles de Carvalho e Silva, agradeço por todos esses anos de parceria, paciência e ensinamentos, minha grande inspiração profissional. Ao professor Sérgio Potsch de Carvalho e Silva, pelos auxílios nas atividades de campo e pelas ótimas histórias sobre os mais diversos assuntos. A professora Samira Portugal, pela paciência, cordialidade e confiança em minha pessoa ao disponibilizar os equipamentos para coleta.

A toda equipe do Laban (Beatriz Fraga, Ana Beatriz, Lucas Quirino, Matheus Mesquita, Ana Lívia, Fernanda Dias, Vitor Sampaio e Marcelle Mongin) pelo auxílio nas atividades de campo, triagem e processamento do material. Nada disso seria possível sem vocês.

Aos alunos do PPGBio, que junto a mim compartilharam, durante esses últimos anos, inúmeras conquistas e momentos de dificuldade, mas sem desistir dos nossos objetivos de mostrar que podemos fazer mais pela ciência brasileira.

A Joice Ruggeri, por aceitar trabalhar ao meu lado ainda enquanto aluno de graduação e servir como grande inspiração para seguir o tema do meu mestrado. Ao colaborador Leonardo Lanna pelos registros fotográficos, sempre mostrando um olhar diferenciado pela vida. E ao Vitor Borges, pelas análises estatísticas e paciência para sempre explicar e esclarecer o quanto essa ferramenta pode auxiliar a alcançar grandes objetivos.

Por fim, aos incontáveis amigos, familiares e alunos que dividiram esse sonho comigo, meus sinceros agradecimentos.

“O assunto mais importante do mundo pode ser simplificado até ao ponto em que todos possam apreciá-lo e compreendê-lo.

Isso é -ou deveria ser-
A mais elevada forma de arte”

Charles Chaplin

RESUMO

Girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos: uma abordagem taxonômica e ecológica

Dener das Neves da Silva

Christina Wyss Castelo Branco e Ana Maria Paulino Telles de Carvalho-e-Silva

Girinos apresentam grandes variações ecológicas e morfológicas e são adaptados para viver em uma ampla variedade de habitats. Girinos de riachos possuem período de desenvolvimento mais longo do que os de poças temporárias. Ciclos prolongados no ambiente aquático permitem que os girinos obtenham condições ideais para a metamorfose, porém pode contribuir para exposição contínua a patógenos, entre eles fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). A escassez de estudos larvares deve-se principalmente à dificuldade na identificação, o que traz relevância adicional para trabalhos que forneçam caracterizações e chaves taxonômicas de girinos. Sendo assim, o objetivo do nosso estudo é ajudar a preencher lacunas taxonômicas, além de buscar compreender quais fatores influenciam na prevalência do *Bd* na assembleia de girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos. Caracterizamos 18 espécies de girinos de riachos, fornecendo informações sobre sua morfologia, ecologia e história natural, além disso disponibilizamos uma proposta de chave dicotômica. Não encontramos relação significativa entre a sazonalidade e a prevalência do *Bd*. Espécies com período de desenvolvimento longo apresentaram prevalência do patógeno mais elevada. Riachos com temperaturas mais baixas e fluxo d'água mais reduzido demonstraram ser ambientes mais propícios ao patógeno, pois registraram maior prevalência, tanto em espécies de desenvolvimento longo como curto.

Palavras chave: *Batrachochytrium dendrobatidis*; chave taxonômica; morfologia; temperatura; fluxo d'água

ABSTRACT

Stream tadpoles of Serra dos Órgãos National Park: a taxonomic and ecological approach

Dener das Neves da Silva

Christina Wyss Castelo Branco e Ana Maria Paulino Telles de Carvalho-e-Silva

Tadpoles present a high range of ecological and morphological variations and are adapted to live in a vast diversity of habitats. Stream tadpoles have longer development periods than tadpoles of temporary puddles. Extended cycles in the aquatic environment allows the tadpoles to obtain ideal conditions to metamorphose, however it may contribute to continuous exposure to pathogens, among them the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). The scarcity of larval studies is mainly due to the difficulty on identification, that brings additional relevance to researches that provide characterization and taxonomic keys of tadpoles. Therefore, our study objective is helping to fill taxonomic gaps, besides seeking to understand which factors influenced in the prevalence of *Bd* in the stream tadpoles' assembly in Serra dos Órgãos National Park. We characterized 18 species of stream tadpoles, providing information about their morphology, ecology and natural history, in addition, we make available a proposal for a dichotomous key. There was no significant relation between seasonality and the prevalence of *Bd*. Species with long development periods presents higher evidence of the infection. Streams with lower temperature and reduced water flow demonstrate to be more propitious environments to the pathogen, as they registered a higher prevalence, both in species with long and short development.

Key words: *Batrachochytrium dendrobatidis*; identification key; morfology; temperature; water flow

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Introdução Geral

Figura 1: Distribuição global da quitridiomicose associada ao declínio das espécies de anfíbios 3

Capítulo 1 – Caracterização e chave taxonômica dos girinos de Riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos: conhecer para preservar

Figura 1: Mapa de localização do Parque Nacional da Serra dos Órgãos 17

Figura 2: Representação das medidas lineares utilizada na caracterização dos girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos 19

Figura 3: Girinos de riacho de 18 espécies de anuros do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, classificados em suas guildas ecomorfológicas 22

Figura 4: Projeção dos dois primeiros eixos da análise dos componentes principais (PCA), mostrando a distribuição no espaço morfológico dos girinos de 18 espécies de anfíbios do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, sudeste do Brasil, considerando os escores médios das espécies 23

Figura 5: Girino de *Rhinella icterica* 26

Figura 6: Girino de *Vitreorana uranoscopa* 28

Figura 7: Girino de *Cycloramphus brasiliensis* 30

Figura 8: Girino de *Aplastodiscus arildae* 32

Figura 9: Girino de *Aplastodiscus eugenioi* 34

Figura 10: Girino de *Aplastodiscus leucopygius* 36

Figura 11: Girino de <i>Bokermannohyla carvalhoi</i>	38
Figura 12: Girino de <i>Bokermannohyla circumdata</i>	40
Figura 13: Girino de <i>Ololygon albicans</i>	42
Figura 14: Girino de <i>Ololygon flavoguttata</i>	44
Figura 15: Girino de <i>Ololygon obtriangulata</i>	46
Figura 16: Girino de <i>Ololygon sp.</i>	48
Figura 17: Girino de <i>Scinax hayii</i>	50
Figura 18: Girino de <i>Crossodactylus aeneus</i>	52
Figura 19: Girino de <i>Hylodes asper</i>	54
Figura 20: Girino de <i>Megaelosia goeldii</i>	56
Figura 21: Girino de <i>Proceratophrys appendiculata</i>	58
Figura 22: Girino de <i>Phasmahyla guttata</i>	60
 Capítulo 2 – Efeitos da sazonalidade, do desenvolvimento e dos fatores ambientais na prevalência do fungo <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (Chytridiomicota) em uma assembleia de girinos de riacho do sudeste da Mata Atlântica brasileira	
Figura 1: Pontos de coleta em uma sub-região do sudeste da Mata Atlântica	81
Figura 2: Fragmento de tecido seccionado do aparato bucal despigmentado do girino de <i>Bokermannohyla carvalhoi</i> (UNIRIO 6469) em microscópio óptico (aumento 400x). Os círculos brancos evidenciam os zoosporângios do <i>Bd</i>	84

Figura 3: Boxplot da variação sazonal da prevalência do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* na assembleia de girinos amostrados em 12 pontos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro, Brasil 88

Figura 4: Efeito do período de desenvolvimento (A), da temperatura (B) e do fluxo d'água (B) sobre a prevalência do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* na assembleia de girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos 90

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 – Caracterização e chave taxonômica dos girinos de Riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos: conhecer para preservar

Tabela 1: Espécies de anfíbios anuros que se utilizam de ambientes lóticos para ovoposição no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro, Brasil 21

Capítulo 2 – Efeitos da sazonalidade, do desenvolvimento e dos fatores ambientais na prevalência do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Chytridiomicota) em uma assembleia de girinos de riacho do sudeste da Mata Atlântica brasileira

Tabela 1: Seleção dos modelos que explicam a variação da prevalência do *Bd.* em girinos dos riachos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil. 87-88

Tabela 2: Coeficientes, erros padrão e intervalos de confiança (inferior e superior) do modelo linear generalizado misto da resposta da prevalência do fungo *Bd.* em girinos à duração do período de desenvolvimento, temperatura e fluxo d'água e os pontos especificados como efeito aleatório em riachos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Teresópolis, RJ, Brasil..... 88

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVOS	4
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL.....	6
CAPÍTULO I.....	13
Caracterização e chave taxonômica dos girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos: conhecer para preservar	14
Introdução	15
Materiais e métodos	17
Área de estudo.....	17
Análise de dados	18
Resultados	20
Guildas Ecomorfológicas	21
Caracterização das espécies	24
Chave taxonômica para os girinos de 18 espécies do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro, Brasil	60
Discussão	63
Referências bibliográficas.....	66
CAPÍTULO II.....	72
Efeitos da sazonalidade, do desenvolvimento e de fatores ambientais na prevalência do fungo <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> (Chytridiomicota) em uma assembleia de girinos de riacho do sudeste da Mata Atlântica brasileira	73

INTRODUÇÃO	76
MATERIAIS E MÉTODOS	79
Área de estudo.....	79
Coleta de dados	80
Análise de dados	82
Análises estatísticas.....	84
RESULTADOS	85
DISCUSSÃO	90
REFERÊNCIAS.....	95
APÊNDICE 1.....	105
APÊNDICE 2.....	107

INTRODUÇÃO GERAL

A maioria das espécies de anuros passa por um estágio larval, possuindo assim um ciclo de vida bifásico (Duellman & Trueb, 1986). Esse ciclo envolve a presença de uma larva aquática de vida livre conhecida como girino (McDiarmid & Altig, 1999). Entre os vertebrados terrestres, esse único estágio larval é considerado um indicador particularmente adequado de processos de radiação adaptativa no contexto evolutivo da diversificação de linhagens (Bossuyt & Milinkovitch, 2000; Roelants, Haas & Bossuyt, 2011).

Vários estudos sobre anuros exploraram as variações e as características dos estágios pós-metamórficos, sendo os caracteres morfológicos e a ecologia dos girinos comparativamente menos estudados (Provete *et al.*, 2012). No entanto, o estágio larval é frequentemente encontrado e de mais fácil registro na natureza para várias espécies de anuros, podendo permanecer no local da reprodução por períodos mais prolongados que os adultos (Lips & Savage, 1996; Rossa-Feres & Nomura, 2006). Embora o número de estudos sobre girinos tenha aumentado (Provete *et al.*, 2012; Haas 2003; Sheil & Alamillo 2005, Alcalde *et al.*, 2011; Fabrezi, 2011; Vera Candioti, Nuñez & Úbeda, 2011; Silva, Rosa & Carvalho-e-Silva, 2018, Dias *et al.*, 2019), os girinos da maioria das espécies neotropicais permanecem desconhecidos. Portanto, estudos que caracterizem adequadamente larvas de anuros podem ajudar a distinguir espécies e inferir relações filogenéticas (Eterovick & Sazima, 2000).

Anuros adultos controlam a seleção do sítio reprodutivo, porém os girinos não possuem esta capacidade, escolhendo apenas o microhabitat onde irão forragear. A seleção do microhabitat é crucial para a sobrevivência das larvas até completar a metamorfose e diversas interações bióticas e abióticas podem conduzir a seleção de microhabitats em poças

e riachos (Waringer-Löschenkohl, 1988; Ultsch, Bradford & Freda, 1999; Eterovick & Barata, 2006; Kopp, Wachlevski & Eterovick, 2006; Afonso & Eterovick, 2007; Strauß *et al.*, 2013).

Nos trópicos, os girinos podem ser encontrados habitando um amplo espectro de ambientes, como riachos, rios, poças temporárias e permanentes (Hoff *et al.*, 1999) e, portanto, os fatores bióticos e abióticos desempenham papéis importantes no desenvolvimento das larvas (Borges-Júnior & Rocha, 2013). Girinos de riachos geralmente têm um período de desenvolvimento mais longo do que os girinos de poças temporárias e efêmeras (Wells, 2007). Esse aspecto comportamental apresenta pontos positivos e negativos pois, longos períodos no ambiente aquático permitem que os girinos cresçam e obtenham condições ideais para a metamorfose (Ultsch, Bradford & Freda, 1999), em contrapartida pode aumentar o tempo de exposição a patógenos aquáticos (Catenazzi, von May & Vredenburg, 2013; Silva, Rosa & Carvalho-e-Silva, 2018; Ruggeri, Toledo & Carvalho-e-Silva, 2018).

As populações de anfíbios estão sofrendo eventos de declínios em escala global (Stuart *et al.*, 2004; Wake & Vredenburg, 2008). No Brasil os principais relatos de extinções ocorreram em áreas montanhosas nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo. Especificamente, declínios populacionais foram observados para mais de 13 espécies na Estação Biológica de Boraceia, estado de São Paulo, após 1979 (Heyer *et al.*, 1988). Também ocorreram declínios durante o mesmo período no Parque Nacional da Serra dos Órgãos e no Parque Nacional do Itatiaia, no estado do Rio de Janeiro e Minas Gerais (Heyer *et al.*, 1988; Guix *et al.*, 1988). Peter Weygoldt não apenas reportou declínios de anfíbios na Reserva Ecológica de Santa Lúcia, estado de Espírito Santo, mas também especulou sobre um potencial agente causador de doenças (Weygoldt, 1989).

Entre os principais fatores apontados como responsáveis pelo declínio das populações de anfíbios estão: destruição e fragmentação de habitats naturais, mudanças globais, introdução de espécies exóticas e doenças infecciosas (Collins & Storer, 2003; Densmore & Green, 2007). Embora diversos aspectos contribuam para o desaparecimento dos anfíbios, as doenças, em especial a quitridiomicose vem sendo apontada como uma das principais causas de declínios e extinções em massa em todo planeta (Skerratt *et al.*, 2007; Fisher, Garner & Walker, 2009; Scheele *et al.*, 2019) (Fig. 1).

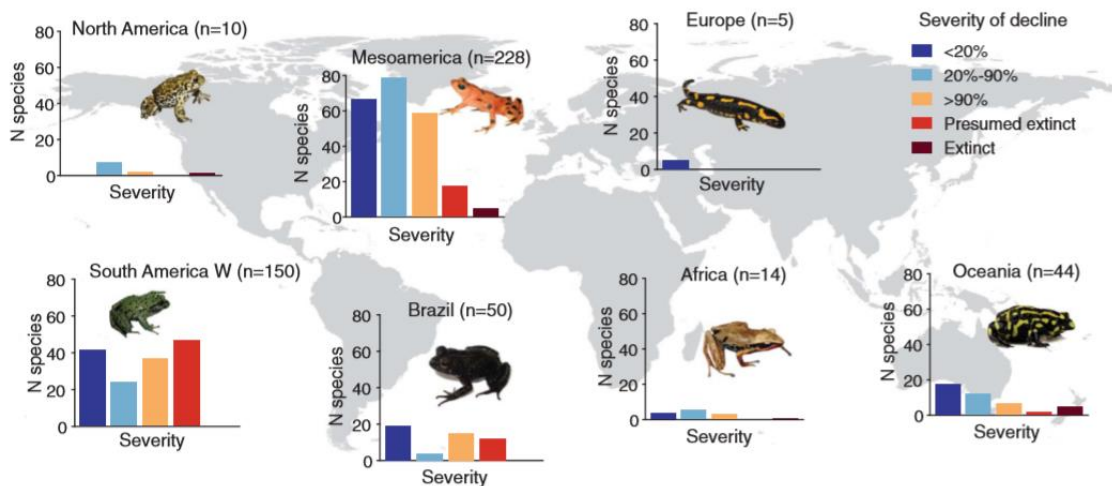


Figura 1. Distribuição global da quitridiomicose associada ao declínio das espécies de anfíbios. Retirado de: Scheele *et al.*, 2019.

A quitridiomicose é uma doença infecciosa emergente, tendo como um dos seus agentes etiológicos o patógeno fúngico *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore, Pessier & Nichols, 1999), doravante *Bd*. O *Bd* pode infectar todas as ordens de anfíbios (Gower *et al.*, 2013, Berger *et al.*, 2016) e foi detectado em todos os continentes onde os anfíbios são encontrados (Fisher, Garner & Walker, 2009). Sua transmissão no ambiente aquático ocorre por meio de zoósporos flagelados que encistam nos hospedeiros, dando origem a um zoosporângio, a partir do qual novos zoósporos são subsequentemente liberados na água (Longcore, Pessier & Nichols, 1999). O que pode facilitar a infecção dos girinos.

Os efeitos negativos da infecção por *Bd* são mais pronunciados nos estágios pós-metamórficos, geralmente levando a morte (Gervasi *et al.*, 2013; Gervasi *et al.*, 2017). Nas larvas, a infecção por *Bd* pode causar mortalidade no hospedeiro em algumas espécies (Blaustein *et al.*, 2005; Garner *et al.*, 2009). No entanto, a infecção está localizada nas peças bucais queratinizadas (Marantelli *et al.*, 2004; McMahon & Rohr, 2015), geralmente resultando em efeitos subletais (Gervasi *et al.*, 2013; Han, Bradley & Blaustein, 2008; Buck *et al.*, 2012). Portanto, enquanto adultos e espécimes pós-metamórficos são altamente sensíveis ao *Bd* (Kilpatrick, Briggs & Daszak, 2010), os girinos podem atuar como reservatórios para o fungo (Valencia-Aguilar *et al.*, 2016). Os hospedeiros reservatórios abrigam infecções não letais e servem como vetores que podem transmitir o agente infeccioso a outros possíveis hospedeiros que são mais sensíveis (Haydon *et al.* 2002). Portanto, os girinos podem estar auxiliando a persistência do patógeno no ambiente.

OBJETIVOS

Tendo em vista o quadro apresentado acima, o objetivo do nosso estudo é ajudar a preencher lacunas taxonômicas existentes, além de buscar compreender quais as principais variáveis que influenciam na prevalência do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) na assembleia de girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro, Brasil.

Objetivos específicos:

- (1) Realizar descrições padronizadas para os girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos;
- (2) Disponibilizar informações sobre a história natural, distribuição espaço temporal e guildas ecomorfológicas das larvas;

- (3) Detectar o efeito da sazonalidade na prevalência do *Bd* nos girinos de riacho desta localidade;
- (4) Identificar possíveis evidências da atuação das larvas como reservatórios para o patógeno;
- (5) Identificar a influência das variáveis ambientais registradas nos corpos hídricos, assim como aspectos da história natural na prevalência do patógeno nas larvas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- Afonso, Lilian G., and Paula C. Eterovick. "Spatial and temporal distribution of breeding anurans in streams in southeastern Brazil." *Journal of Natural History* 41.13-16 (2007): 949-963.
- Alcalde, Leandro., Florencia Vera Candiotti, Francisco Kolenc, Claudio Borteiro, and Diego Baldo. "Cranial anatomy of tadpoles of five species of *Scinax* (Hylidae, Hylinae)". *Zootaxa* 2787.1 (2011): 19-36.
- Berger, Lee., Alexandra A. Roberts, Jamie Voyles, Joyce E. Longcore, Kris A. Murray, and Lee F. Skerratt. "History and recent progress on chytridiomycosis in amphibians". *Fungal Ecology* 19 (2016): 89-99.
- Blaustein, Andrew R., John M. Romansic, Erin A. Scheessele, Barbara A. Han, Allan Pessier, and Joyce E. Longcore. "Interspecific variation in susceptibility of frog tadpoles to the pathogenic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*". *Conservation Biology* 19.5 (2005): 1460-1468.
- Bossuyt, Franky, and Michel C. Milinkovitch. "Convergent adaptive radiations in Madagascan and Asian ranid frogs reveal covariation between larval and adult traits." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97.12 (2000): 6585-6590.
- Borges-Júnior, Vitor., and Carlos Frederico Rocha. "Tropical tadpole assemblages: which factors affect their structure and distribution?." *Oecologia Australis* 17.2 (2013): 217-228.
- Buck, Julia C., Erin A. Scheessele, Rick A. Relya, Andrew R. Blaustein. "The effects of multiple stressors on wetland communities: pesticides, pathogens and competing amphibians." *Freshwater Biology* 57.1 (2012): 61-73.

- Catenazzi, Alessandro, Rudolf von May, and Vance T. Vredenburg. "High prevalence of infection in tadpoles increases vulnerability to fungal pathogen in high-Andean amphibians." *Biological Conservation* 159 (2013): 413-421.
- Collins, James P., and Andrew Storfer. "Global amphibian declines: sorting the hypotheses." *Diversity and distributions* 9.2 (2003): 89-98.
- Densmore, Christine L., and David Earl Green. "Diseases of amphibians." *Iilar Journal* 48.3 (2007): 235-254.
- Dias, Pedro H. S., Katyuscia Araujo-Vieira, Raquel F. Santos, and Camila Both. "Review of the Internal Larval Anatomy of the *Proceratophrys bigibbosa* Species Group (Anura: Odontophrynidae), with Description of the Tadpole of *P. brauni* Kwet and Faivovich, 2001." *Copeia* 107.3 (2019): 417-429.
- Duellman, W. E., and L. Trueb. *Biology of Amphibians*. New York: McGraw-Hill, 1986.
- Sazima, Ivan, and Paula Cabral Eterovick. "Structure of an anuran community in a montane meadow in southeastern Brazil: effects of seasonality, habitat, and predation." *Amphibia-Reptilia* 21.4 (2000): 439-461.
- Eterovick, Paula C., and Izabela M. Barata. "Distribution of tadpoles within and among Brazilian streams: the influence of predators, habitat size and heterogeneity." *Herpetologica* 62.4 (2006): 365-377.
- Fabrezi, Marissa. "Heterochrony in growth and development in anurans from the Chaco of South America." *Evolutionary Biology* 38.4 (2011): 390-411.
- Fisher, Matthew C., Trenton WJ Garner, and Susan F. Walker. "Global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and amphibian chytridiomycosis in space, time, and host." *Annual review of microbiology* 63 (2009): 291-310.
- Garner, Trenton WJ, et al. "Life history tradeoffs influence mortality associated with the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*." *Oikos* 118.5 (2009): 783-791.

- Gervasi, Stephanie S., Carmen Gondhalekar, Deanna H. Olson, and Andrew R. Blaustein. "Host identity matters in the amphibian-*Batrachochytrium dendrobatidis* system: fine-scale patterns of variation in responses to a multi-host pathogen." *PloS one* 8.1 (2013): e54490.
- Gervasi, Stephanie S., Patrick R. Stephens, Jessica Hua, Catherine L. Searle, Gisselle Yang Xie, Jenny Urbina, Deanna H. Olson, Betsy A. Bancroft, Virginia Weis, John I. Hammond, Rick A. Relyea, and Andrew R. Blaustein. "Linking ecology and epidemiology to understand predictors of multi-host responses to an emerging pathogen, the amphibian chytrid fungus." *PloS one* 12.1 (2017): e0167882.
- Gower, David J., Thomas Doherty-Bone, Simon P. Loader, Mark Wilkinson, Marcel T. Kouete, Benjamin Tapley, Frances Orton, Olivia Z. Daniel, Felicity Wynne, Edmund Flach, Hendrik Müller, Michele Menegon, Ian Stephen, Robert K. Browne, Mathew C. Fisher, Andrew A. Cunningham, and Trenton W. J. Garner. "*Batrachochytrium dendrobatidis* infection and lethal chytridiomycosis in caecilian amphibians (Gymnophiona)." *EcoHealth* 10.2 (2013): 173-183.
- Guix, C. Juan., Albert Monton, Gustavo A. Llorente¹, Miguel A. Carretero, and Xavier Santos. "Natural history and conservation of bufonids in four Atlantic rainforest areas of southeastern Brazil." *Herpetological Natural History* 6.1 (1998): 1-12.
- Haas, Alexander. "Phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters (Amphibia: Anura)★." *Cladistics* 19.1 (2003): 23-89.
- Han, Barbara A., Paul W. Bradley, and Andrew R. Blaustein. "Ancient behaviors of larval amphibians in response to an emerging fungal pathogen, *Batrachochytrium dendrobatidis*." *Behavioral Ecology and Sociobiology* 63.2 (2008): 241-250.

- Haydon, Daniel T., Sarah Cleaveland, Louise H. Taylor, and Karen Laurenson M. "Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge." *Emerging infectious diseases* 8.12 (2002): 1468-1473.
- Heyer, W. Ronald., A. Stanley Rand, Carlos Alberto Goncalvez da Cruz, and Oswaldo L. Peixoto. "Decimations, extinctions, and colonizations of frog populations in southeast Brazil and their evolutionary implications." *Biotropica* (1988): 230-235.
- Hoff, Karin S., Andrew R. Blaustein, Roy W. McDiarmid, Ronald Altig. 1999. "Behaviour: interactions and their consequences". In *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*, edited by Roy W. McDiarmid, Ronald Altig, 215-239. Chicago: University of Chicago Press.
- Kilpatrick, A. Marm, Cheryl J. Briggs, and Peter Daszak. "The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians." *Trends in Ecology & Evolution* 25.2 (2010): 109-118.
- Kopp, K., M. Wachlevski, and P. C. Eterovick. "Environmental complexity reduces tadpole predation by water bugs." *Canadian Journal of Zoology* 84.1 (2006): 136-140.
- Lips, Karen R., and Jay M. Savage. "Key to the known tadpoles (Amphibia: Anura) of Costa Rica." *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 31.1 (1996): 17-26.
- Longcore, Joyce E., Allan P. Pessier, and Donald K. Nichols. "*Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians." *Mycologia* 91.2 (1999): 219-227.
- Marantelli, Gerry., Lee Berger, Rick Speare, and Leigh Keegan L. "Distribution of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* and keratin during tadpole development." *Pacific Conservation Biology* 10.3 (2004): 173-179.
- Roy W. McDiarmid, Ronald Altig. 1999. "Introduction: The tadpole arena". In *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*, edited by Roy W. McDiarmid, Ronald Altig, 1-6. Chicago: University of Chicago Press.

- McMahon, Taegan A., and Jason R. Rohr. "Transition of chytrid fungus infection from mouthparts to hind limbs during amphibian metamorphosis." *EcoHealth* 12.1 (2015): 188-193.
- Provete, Diogo Borges., Michel Varajão Garey, Fernando Rodrigues da Silva, and Mainara Xavier Jordani. "Knowledge gaps and bibliographical revision about descriptions of free-swimming anuran larvae from Brazil." *North-Western Journal of Zoology* 8.2 (2012): 283-286.
- Rossa-Feres, Denise de Cerqueira, and Fausto Nomura. "Characterization and taxonomic key for tadpoles (Amphibia: Anura) from the northwestern region of São Paulo State, Brazil." *Biota Neotropica* 6.1 (2006): 0-0.
- Roelants, Kim, Alexander Haas, and Franky Bossuyt. "Anuran radiations and the evolution of tadpole morphospace." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108.21 (2011): 8731-8736.
- Ruggeri, Joice, Luís Felipe Toledo, and Sergio Potsch de Carvalho-e-Silva. "Stream tadpoles present high prevalence but low infection loads of *Batrachochytrium dendrobatidis* (Chytridiomycota)." *Hydrobiologia* 806.1 (2018): 303-311.
- Scheele, Ben C., Frank Pasmans, Lee F. Skerratt, Lee Berger, An Martel, Wouter Beukema, Aldemar A. Acevedo, Patricia A. Burrowes, Tamílie Carvalho, Alessandro Catenazzi, Ignacio De la Riva, Matthew C. Fisher, Sandra V. Flechas, Claire N. Foster, Patricia Frías-Álvarez, Trenton W. J. Garner, Brian Gratwicke, Juan M. Guayasamin, Mareike Hirschfeld, Jonathan E. Kolby, Tiffany A. Kosch, Enrique La Marca, David B. Lindenmayer, Karen R. Lips, Ana V. Longo, Raúl Maneyro, Cait A. McDonald, Joseph Mendelson I, Pablo Palacios-Rodriguez, Gabriela Parra-Olea, Corinne L. Richards-Zawacki, Mark-Oliver Rödel, Sean M. Rovito, Claudio Soto-Azat, Luís Felipe Toledo, Jamie Voyles, Ché Weldon, Steven M. Whitfield, Mark Wilkinson, Kelly R. Zamudio,

- Stefano Canessa. "Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity." *Science* 363.6434 (2019): 1459-1463.
- Sheil, Christopher A., and Hugo Alamillo. "Osteology and skeletal development of *Phyllomedusa vaillanti* (Anura: Hylidae: Phyllomedusinae) and a comparison of this arboreal species with a terrestrial member of the genus." *Journal of Morphology* 265.3 (2005): 343-368.
- Silva, Dener das Neves, Felipe Cesar Barros da Rosa, and Ana Maria Telles Carvalho-e-Silva. "Ontogeny and behavioural aspects of the tadpoles of *Megaelasia goeldii* (Baumann, 1912) (Amphibia, Anura, Hylodidae)." *Herpetology Notes* 11 (2018): 629-639.
- Skerratt, Lee Francis., Lee Berger, Richard Speare, Scott Cashins, Keith Raymond McDonald, Andrea Dawn Phillott, Harry Bryan Hines, Nicole Kenyon. "Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs." *EcoHealth* 4.2 (2007): 125.
- Strauß, Axel., Roger Daniel Randrianiaina, Miguel Vences, and Julian Glos. "Species distribution and assembly patterns of frog larvae in rainforest streams of Madagascar." *Hydrobiologia* 702.1 (2013): 27-43.
- Stuart, Simon N., Janice S. Chanson, Neil A. Cox, Bruce E. Young, Ana S. L. Rodrigues, Debra L. Fischman, and Robert W. Waller. "Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide." *Science* 306.5702 (2004): 1783-1786.
- Ultsch, Gordon R., Bradford, David F, and Joseph Freda. 1999. "Physiology: coping with the environment". In *Tadpoles: the biology of anuran larvae*, edited by Roy W. McDiarmid, Ronald Altig, 189–214. Chicago, Chicago: University of Chicago Press.

- Valencia-Aguilar, Anyelet., Luís F. Toledo, Marcos V.C. Vital, and Tamí Mott. "Seasonality, environmental factors, and host behavior linked to disease risk in stream-dwelling tadpoles." *Herpetologica* 72.2 (2016): 98-106.
- Vera Candiotti, Maria Florencia, José J. Nuñez, and Carmen Ubeda. "Development of the nidicolous tadpoles of *Eupsophus emiliopugini* (Anura: Cycloramphidae) until metamorphosis, with comments on systematic relationships of the species and its endotrophic developmental mode." *Acta Zoologica* 92.1 (2011): 27-45.
- Wake, David B., and Vance T. Vredenburg. "Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105.Supplement 1 (2008): 11466-11473.
- Waringer-Löschenkohl, Andrea. "An experimental study of microhabitat selection and microhabitat shifts in European tadpoles." *Amphibia-Reptilia* 9.3 (1988): 219-236.
- Wells, Kentwood D. *The ecology and behavior of amphibians*. Chicago: University of Chicago Press, 2007.
- Weygoldt, Peter. "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* 24.4 (1989): 249-255.

CAPÍTULO I

Manuscrito a ser submetido à revista North-Western Journal of Zoology

Caracterização e chave taxonômica dos girinos de riacho do Parque Nacional da

Serra dos Órgãos: conhecer para preservar

Dener das Neves da Silva¹, Christina Wyss Castelo Branco³, Ana Maria Paulino Telles de
Carvalho-e-Silva¹

¹ Laboratório de Biossistemática de Anfíbios, Departamento de Zoologia, Instituto de
Biociências, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro, 22290-240, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ Núcleo de Estudos Limnológicos, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências,
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Estado do Rio de
Janeiro, 22290-240, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Introdução

Muitas espécies de anuros possuem um ciclo de vida bifásico, esse ciclo envolve a presença de uma larva aquática de vida livre, conhecida como girino (McDiarmid & Altig 1999a). Os girinos apresentam grandes variações ecológicas e morfológicas e são adaptados para viver em uma ampla variedade de habitats (Alford 1999, Altig & Johnston 1989, Inger 1986). Na região tropical, podem ser encontrados habitando riachos, corredeiras, poças temporárias e permanentes (Hoff et al. 1999).

Os girinos são considerados como uma excelente forma de registro, pois são relativamente abundantes nos ambientes em que ocorrem e podem permanecer em alguns habitats aquáticos por longos períodos de tempo (Lips & Savage 1996, Anstis 2002, Rossa-Feres & Nomura 2006, Andrade et al. 2007). Por apresentarem uma relativa facilidade em sua amostragem, são em muitos casos o estágio ideal para se obter informações rápidas sobre impactos antrópicos na biota local (Anstis 2002) e são considerados como bons modelos para o desenvolvimento de estudos que envolvam ecologia e evolução (Andrade et al. 2007).

A morfologia e biologia dos girinos atraem o interesse de pesquisadores de diferentes áreas. Incluir informações sobre características larvais e hábitos em estudos sistemáticos, não só ajuda na identificação de várias espécies de anfíbios, mas também pode ser usado para melhorar a nossa compreensão de relações filogenéticas (Hall et al. 1997). Além disso, muitos estudos recentes estão dando importância aos girinos em diferentes abordagens, tais como: anatomia, ontogenia, ecologia e até mesmo filogenias baseadas exclusivamente em caracteres larvais (Haas 2003, Sheil & Alamillo 2005, Alcalde et al. 2011, Fabrezi 2011, Vera Candioti et al. 2011, Silva et al. 2018, Dias et al. 2019). Sob outro aspecto, o conhecimento da morfologia de girinos pode ter importante papel na detecção de possível influência de poluentes sobre a biota aquática. Costa & Nomura (2015) observaram um

aumento nos desvios no desenvolvimento ontogenético em girinos neotropicais, como consequência da exposição crônica ao herbicida Roundup®.

Girinos de riachos têm um período de desenvolvimento mais longo do que os girinos de poças temporárias e efêmeras (Wells 2007). Esse aspecto comportamental apresenta pontos positivos e negativos. Períodos prolongados no ambiente aquático permitem que os girinos cresçam e obtenham condições ideais para a metamorfose (Ultsch et al. 1999), porém o maior tempo de permanência na água pode contribuir para uma exposição mais prolongada a patógenos (Vieira et al. 2013, Catenazzi et al. 2013, Ruggeri et al. 2018, Silva et al. 2018).

Estudos que abordam a elaboração de chaves de identificação para girinos no Brasil são extremamente escassos. Atualmente, apenas seis localidades brasileiras possuem trabalhos com esse viés, uma para região central da floresta amazônica (Hero 1990), uma para a região noroeste do estado de São Paulo (Rossa-Feres & Nomura 2006), uma para o estado do Rio Grande do Sul (Machado & Maltchik 2007), uma para região do quadrilátero ferrífero no estado de Minas Gerais (Pezzuti 2015), uma para porção oceânica da Ilha Grande no estado do Rio de Janeiro (Fatorelli et al. 2017) e uma para região norte da Mata Atlântica (Dubeux et al. 2020).

Estimativas sugerem que 40% das espécies de anfíbios anuros não tem sua fase larvar conhecida (Provete et al. 2012). A escassez de estudos larvares deve-se principalmente à dificuldade na identificação de larvas, o que traz relevância adicional para estudos que forneçam caracterizações e chaves de identificação de girinos. Dessa forma, os objetivos deste estudo são: (1) gerar pranchas fotográficas, além de descrições padronizadas de todas as espécies; (2) produzir uma chave de identificação, que possibilite a determinação dos girinos de riacho de 18 espécies de anuros que ocorrem no Parque Nacional da Serra dos Órgãos; (3) disponibilizar informações sobre a história natural das mesmas.

Materiais e métodos

Área de estudo

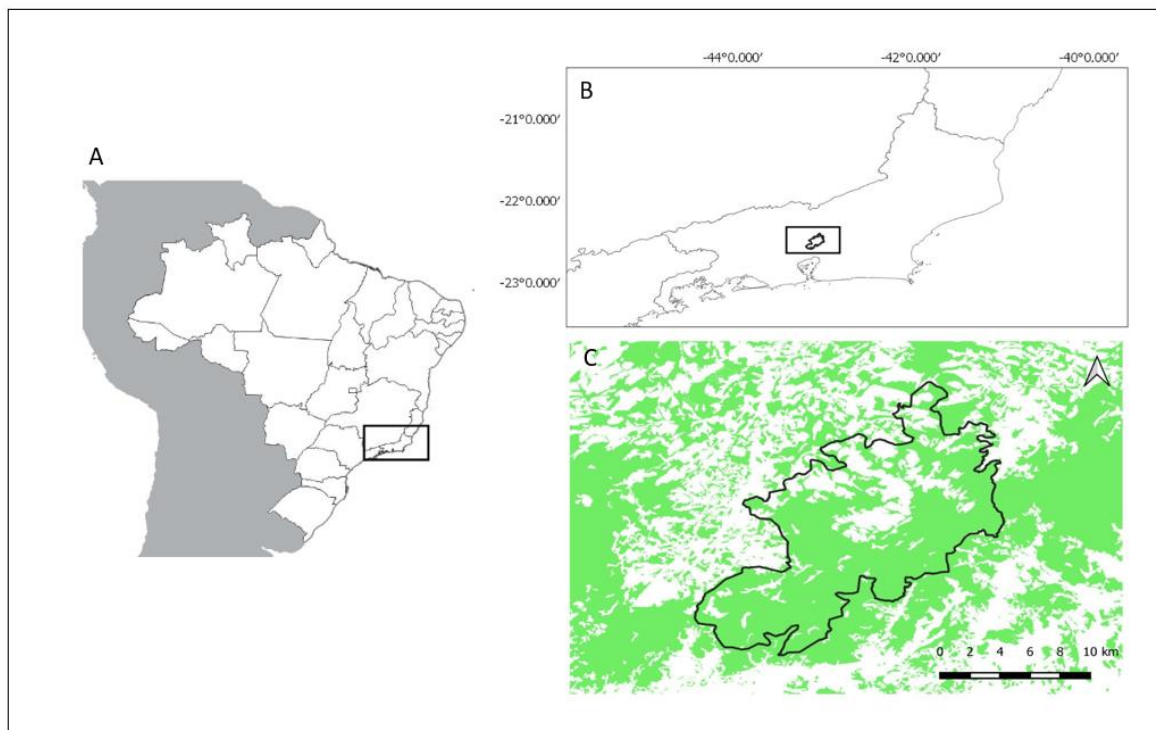


Figura 1. Localização do Parque Nacional da Serra dos Órgãos: (A) limites dos estados brasileiros, com ênfase no estado do Rio de Janeiro; B) estado do Rio de Janeiro, com ênfase na região que abriga o Parque Nacional da Serra do Órgãos; C) delimitação do Parque Nacional da Serra dos Órgãos com exposição de sua cobertura florestal.

A Serra dos Órgãos corresponde um segmento da Serra do Mar que constitui uma das mais destacadas feições orográficas da borda sul-sudeste do continente sul-americano (Hasui et al. 1975). Essa região foi identificada pelo Ministério do Meio Ambiente como uma área de extrema importância biológica (Cronenberg & Viveiros-de-Castro 2007).

O Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) está localizado nas montanhas da Serra dos Órgãos, na parte central do complexo da Serra do Mar, no estado do Rio de Janeiro. Esta área de conservação engloba parte dos municípios de Teresópolis, Petrópolis, Magé e Guapimirim, totalizando uma área de 20.024 ha de floresta ombrófila e floresta das terras

altas (Figura 1). A temperatura média anual na região é de 19°C e a precipitação varia entre 1.500 mm e 3.000 mm por ano (ICMBIO 2008).

O PARNASO possui uma alta diversidade de habitats, o que, por sua vez, promove uma alta diversidade de espécies animais (ICMBIO 2008). Ele abriga uma grande parte da diversidade geral e espécies endêmicas da Mata Atlântica, incluindo cerca de 100 espécies de anfíbios anuros (ICMBIO 2008).

Análise de dados

As espécies foram caracterizadas quanto à sua morfologia externa, coloração e história natural, seguindo parcialmente a metodologia realizada por Pezzuti (2015). As medições foram realizadas com girinos entre os estágios 30 e 38 (Gosner 1960), levando em consideração a disponibilidade do material depositado nas coleções analisadas (n = 1-10).

A terminologia foi adaptada de Altig & McDiarmid (1999). As medidas foram realizadas com auxílio de um paquímetro digital (precisão 0,01) e seguiram Altig & McDiarmid (1999): CT (comprimento total), CC (comprimento do corpo), CCA (comprimento da cauda), AMCA (altura máxima da cauda), DIN (distância internasal), DIO (distância interocular), LMC (largura da musculatura caudal), AMC (altura da musculatura caudal); Lavilla & Scrocchi (1986): LC (largura do corpo), AC (altura máxima do corpo), DOF (distância do olho ao focinho), DNF (distância da narina ao focinho), DO (diâmetro do olho), DN diâmetro narina), DFE (distância do focinho ao espiráculo), LDO (largura do disco oral); Grosjean (2005): AND (altura da nadadeira dorsal), ANV (altura da nadadeira ventral).

Para a caracterização de algumas estruturas, como altura da cauda, musculatura da cauda, olhos, narinas e disco oral, foram estabelecidas classes de tamanho, determinadas pelas seguintes proporções: altura máxima da cauda / comprimento da cauda (baixa < 0,23 < média < 0,38 < grande), altura da nadadeira dorsal / comprimento da cauda (baixa < 0,07 < média

< 0,13 < alta), altura da nadadeira ventral / comprimento da cauda (baixa < 0,07 < média < 0,13 < alta), altura da musculatura da cauda / altura do corpo (delgada < 0,46 < média < 0,63 < robusta), diâmetro do olho / largura do corpo (pequeno < 0,15 < médio < 0,21 < grande), diâmetro da narina / largura do corpo (pequena < 0,043 < média < 0,057 < grande), largura do disco oral / largura do corpo (pequeno < 0,45 < médio < 0,58 < grande), distância interocular / largura do corpo (dorsal < 0,57 < dorsolateral < 0,78 < lateral), distância internasal / largura do corpo (dorsal < 0,40 < dorsolateral < 0,63 < lateral).

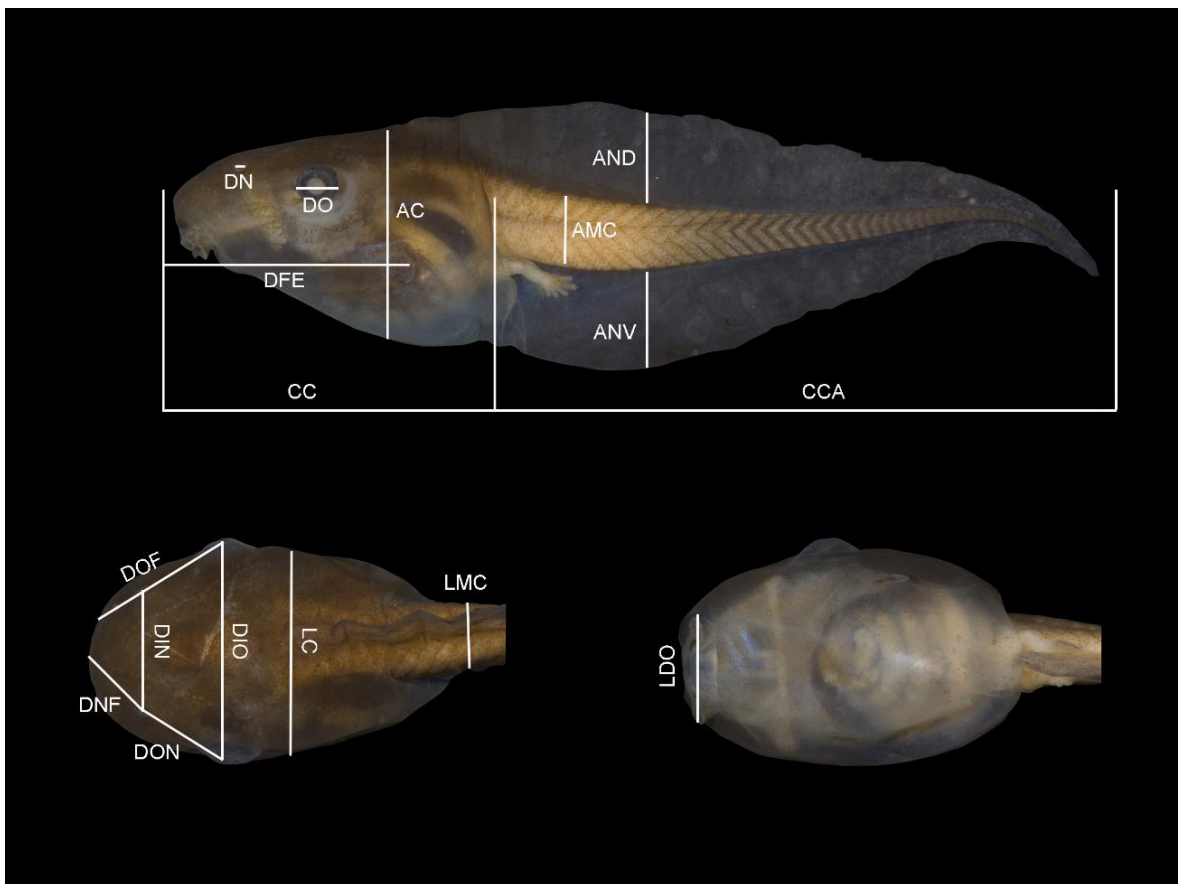


Figura 2. Representação das medidas lineares utilizada na caracterização dos girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos. As siglas estão explicadas acima no texto.

Para realização das pranchas fotográficas, os indivíduos foram alocados em um suporte de vidro, completamente submersos e fotografados em vista lateral, dorsal e ventral. As imagens foram realizadas com auxílio de uma câmera Canon 60D acoplada a uma lente

Canon Ef 100mm F/2.8 Macro USM. O disco oral das larvas foi fotografado e caracterizado sob um microscópio estereoscópico.

A classificação das guildas ecomorfológicas segue Altig & Johnston (1989) e McDiarmid e Altig (1999b) e são baseados nos aspectos morfológicos, habitat e distribuição na coluna d'água. Para determinar a influência da morfologia na distribuição dos girinos no ambiente, realizamos uma análise de componentes principais (PCA), utilizando as seguintes razões entre os dados morfométricos: CC/CT; LMC/LC; AC/LC; DIO/LC; DO/CC; LDO/LC; DN/CC; DNF/DOF; AND/CCA; ANV/CCA. As análises foram realizadas utilizando o ambiente R de programação (R core Team 2019).

Resultados

A partir de dados obtidos em trabalhos de campo e levantamento na Coleção de anfíbios da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO) e Coleção de Zoologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (ZUFERJ), foram registradas 21 espécies de girinos de riacho, sendo um da família Bufonidae (*Rhinella icterica*), um da família Centrolenidae (*Vitreorana uranoscopa*), um da família Cycloramphydae (*Cycloramphus brasiliensis*), 12 da família Hylidae (*Aplastodiscus arildae*, *A. eugenioi*, *A. flumineus*, *A. leucopygius*, *A. musicus*, *Bokermannohyla carvalhoi*, *B. circumdata*, *Oloolygon albicans*, *O. flavoguttata*, *O. obtriangulata*, *O. sp.*, *Scinax hayii*), cinco da família Hylodidae (*Crossodactylus aeneus*, *Hylodes asper*, *H. pipilans*, *Megaelosia goeldii*), um da família Odontophrynidae (*Proceratophrys appendiculata*) e um da família Phyllomedusidae (*Phasmahyla guttata*) (Tabela 1).

Tabela 1. Espécies de anfíbios anuros que se utilizam de ambientes lóticos para ovoposição no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro, Brasil.

Famílias	Espécies
Bufonidae Gray 1825	<i>Rhinella icterica</i> (Spix 1824)
Centrolenidae Taylor 1951	<i>Vitreorana uranoscopa</i> (Müller 1924)
Cycloramphidae Bonaparte 1850	<i>Cycloramphus brasiliensis</i> (Steindachner 1864)
	<i>Aplastodiscus arildae</i> (Cruz & Peixoto 1987)
	<i>Aplastodiscus eugenioi</i> (Carvalho-e-Silva & Carvalho-e-Silva 2005)
	<i>Aplastodiscus flumineus</i> (Cruz & Peixoto 1985)
	<i>Aplastodiscus leucopygius</i> (Cruz & Peixoto 1985)
	<i>Aplastodiscus musicus</i> (Lutz 1949)
	<i>Bokermannohyla carvalhoi</i> (Peixoto 1981)
Hylidae Rafinesque 1815	<i>Bokermannohyla circumdata</i> (Cope 1871)
	<i>Ololygon albicans</i> (Bokermann 1967)
	<i>Ololygon flavoguttata</i> (Lutz & Lutz 1939)
	<i>Ololygon sp.</i>
	<i>Ololygon obtriangulata</i> (Lutz 1973)
	<i>Scinax hayii</i> (Barbour 1909)
	<i>Crossodactylus aeneus</i> Müller 1924
Hylodidae Günther 1858	<i>Hylodes asper</i> (Müller 1924)
	<i>Hylodes pipilans</i> Canedo & Pombal 2007
	<i>Megaelasia goeldii</i> (Baumann 1912)
Odontophrynidae Lynch 1969	<i>Proceratophrys appendiculata</i> (Günther 1873)
Phyllomedusidae Günther 1858	<i>Phasmahyla guttata</i> (Lutz 1924)

Das 21 espécies registradas em levantamentos nas coleções científicas e atividades de campo, *A. flumineus*, *A. musicus* e *H. pipilans*, não fizeram parte da caracterização e da chave taxonômica. O motivo para a exclusão das espécies de nossas análises é devido à ausência de material disponível. Além disso, as larvas não estão descritas na literatura, fator que dificulta sua identificação em materiais depositados.

Guildas Ecomorfológicas

Os girinos foram classificados em seis guildas ecomorfológicas, sendo elas: bentônicas (*R. icterica*; *A. Arildae*; *A. eugenioi*; *A. leucopygius*; *B. carvalhoi*; *B. circumdata*; *O. albicans*; *O. flavoguttata*; *O. sp.*; *O. obtriangulata*; *P. appendiculata*), fossorial (*V. uranoscopa*); nectônica (*S. hayii*); neustônica (*P. guttata*); semi-terrestre (*C. brasiliensis*) e raspadores “clasping” (*C. aeneus*; *H. asper*; *M. goeldii*).

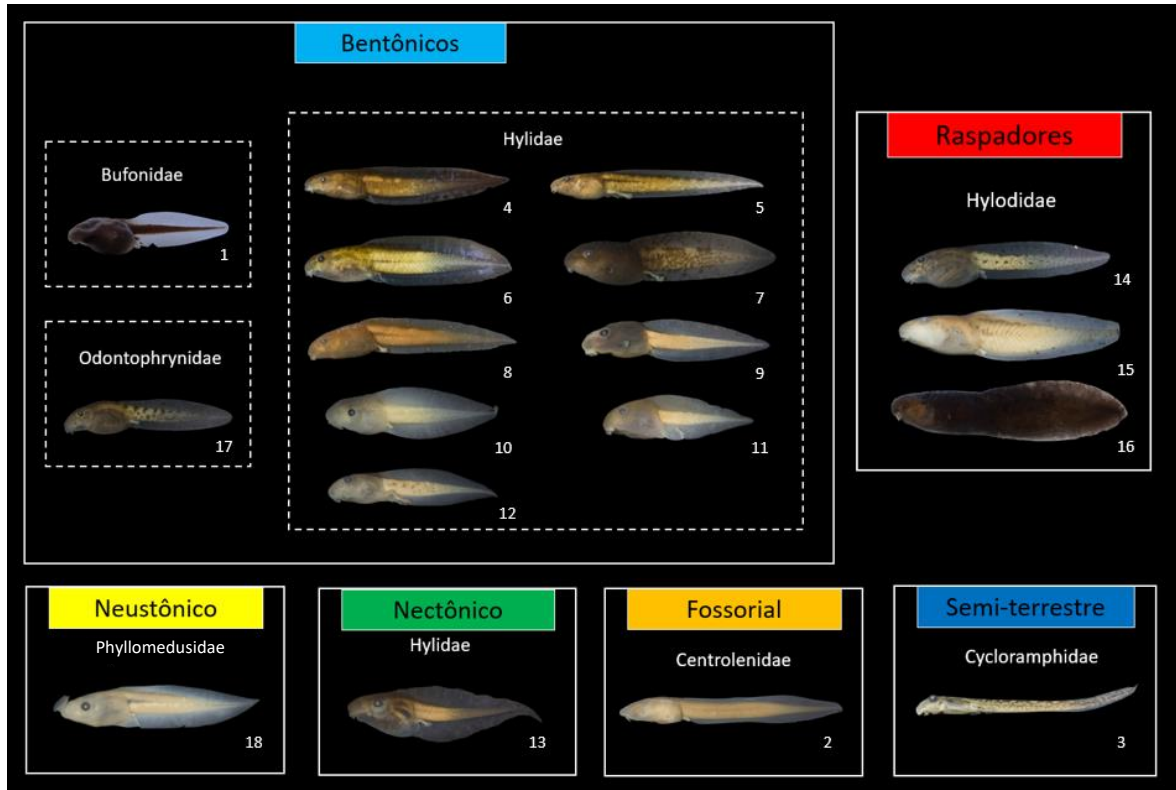


Figura 3. Girinos de riacho de 18 espécies de anuros do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, classificados em suas guildas ecomorfológicas seguindo Altig & Johnston (1989): **Bufoinae** (1) *Rhinella icterica*; **Centrolenidae** (2) *Vitrorana uranoscopa*; **Cycloramphidae** (3) *Cycloramphus brasiliensis*; **Hylidae** (4) *Aplastodiscus arildae*, (5) *A. eugenioi*, (6) *A. leucopygius*, (7) *Bokermannohyla carvalhoi*, (8) *B. circumdata*, (9) *Ololygon albicans*, (10) *O. flavoguttata*, (11) *O. obtriangulata*, (12) *O. sp.*, (13) *Scinax hayii*; **Hyloidae** (14) *Crossodactylus aeneus*, (15) *Hylodes asper*, (16) *Megaelasia goeldii*; **Odontophrynidae** (17) *Proceratophrys appendiculata*; **Phyllomedusidae** (18) *Phasmahyla guttata*.

Com a observação da análise de componentes principais (PCA) realizada a partir das razões morfométricas obtidas das larvas. Foi possível notar uma convergência entre os atributos morfológicos e a posição ocupada pelas larvas na coluna d'água (Fig. 4).

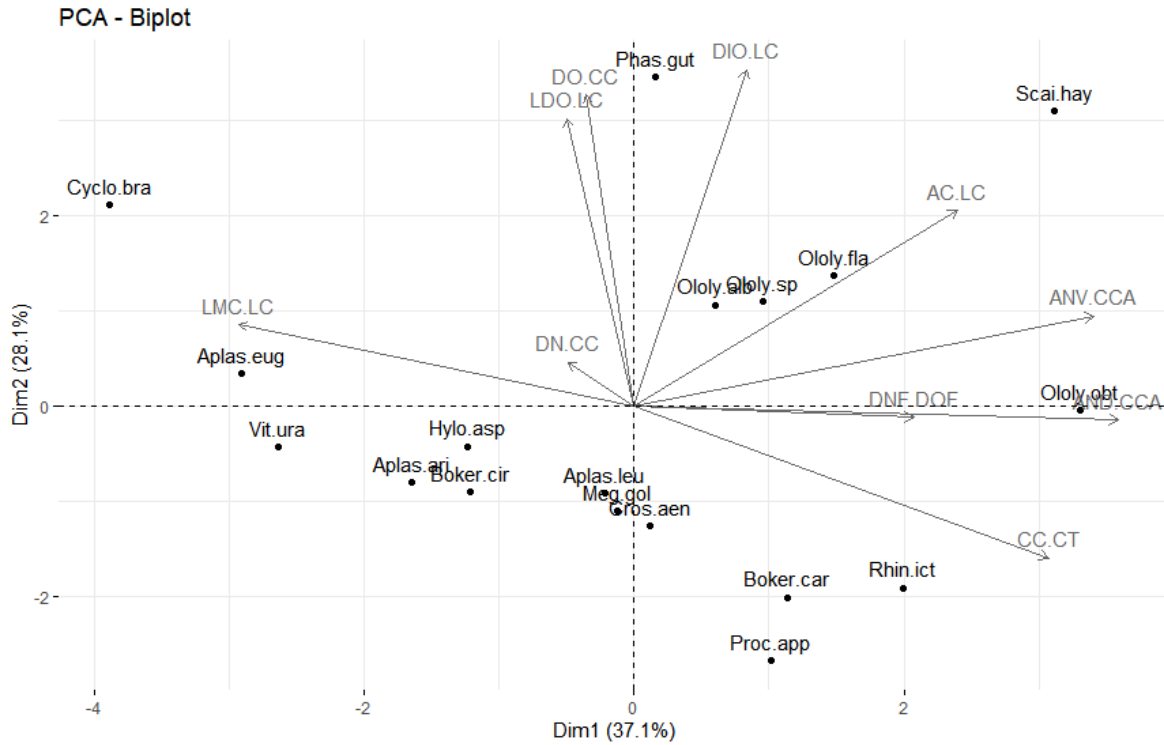


Figura 4. Projeção dos dois primeiros eixos da análise dos componentes principais (PCA), mostrando a distribuição no espaço morfológico dos girinos de 18 espécies de anfíbios do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, sudeste do Brasil, considerando os escores médios das espécies. Abreviações: Aplas.ari = *Aplastodiscus arildae*, Aplas.eug = *A. eugenioi*, Aplas.leu = *A. leucopygius*, Boker.carv = *Bokermannohyla carvalhoi*, Boker.cir = *Bokermannohyla circumdata*, Cros.aen = *Crossodactylus aeneus*, Cyclo.bra = *Cycloramphus brasiliensis*, Hylo.asp = *Hylodes asper*, Meg.gol = *Megaelasia goeldii*, Ololy.alb = *Ololygon albicans*, Ololy.flu = *Ololygon flavoguttata*, Ololy.obt = *Ololygon obtriangulata*, Ololy.sp = *Ololygon sp.*, Phas.gut = *Phasmahyla guttata*, Proc.app = *Procaratophrys appendiculata*, Rhin.ict = *Rhinella icterica*, Scin.hayi = *Scinax hayii*, Vit.ura = *Vitreorana uranoscopa*.

Girinos nectônicos e neustônicos ficaram posicionados relativamente próximos, exibindo maiores valores de altura máxima da cauda, distância interocular, distância internasal e corpo mais comprimido. Larvas com comportamento fossorial e semi-terrestre, apresentaram altura da cauda relativamente baixa e musculatura da cauda robusta mais robusta em comparação a outras espécies. Os girinos bentônicos e raspadores também se dispuseram de maneira mais correlata em nossas observações. Esses indivíduos em sua maioria demonstraram uma altura máxima da cauda reduzida, musculatura caudal bem desenvolvida, olhos e narinas dorsais e disco oral com tamanho reduzido.

As larvas do gênero *Ololygon*, apesar de demonstrarem hábitos bentônicos, apresentaram razões morfométricas similares as larvas nectônicas e neustônicas. Podendo indicar uma possível plasticidade na ocupação da coluna d'água por essas espécies.

Caracterização dos girinos

Foram realizadas, para 18 espécies, descrições padronizadas, baseadas nas medidas lineares (Figura 2), além disso, aspectos da história natural também foram incluídos para caracterização e distinção das larvas.

Bufonidae Gray, 1825

Rhinella icterica (Spix 1824)

Descrição do girino (Estágios 33-36; n = 6): Comprimento total máximo 31,68 mm (no estágio 36). **Corpo** deprimido ($AC/LC = 0,81$); com comprimento referente à 0,39 vezes o comprimento total; ovoide em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral.

Focinho: oval em vista dorsal, arredondado em vista lateral. **Olhos:** tamanho pequeno ($DO/LC = 0,17$), localizados dorsalmente; orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,43$).

Narinas: tamanho médio ($DN/LC = 0,05$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,18$), oval, borda marginal elevada, sem projeção no bordo

interno, mais próximas dos olhos do que do focinho. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, direcionado para parte posterodorsal, abrindo-se no terço final do corpo ($DEF/CC = 0,66$), parede interna do tubo presente, pequena extremidade livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral não visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterodorsal do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,33$); musculatura da cauda delgada ($AMC/AC = 0,30$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,13$); terminação da cauda arredondada. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,12$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem convexa, originando-se no terço posterior do corpo com inclinação abrupta. Nadadeira ventral média ($ANV/CCA = 0,11$), com a margem externa convexa, originando-se no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno ($LDO/LC = 0,38$), posicionado anteroventralmente; emarginado lateralmente e ventralmente; papilas marginais com grande interrupção na parte superior e inferior; com uma fileira de papilas cônicas na região lateral e duas fileiras na parte lateroventral do disco; papilas submarginais presentes, pouco numerosas; a fórmula do disco oral é (LTRF) $2(2)/3$, $A1=A2$, $P1=P2=P3$, bico presente, bem desenvolvido, serrilhado, a estrutura superior tem formato de arco e a inferior. **História natural:** hábito bentônico, podendo ser encontrado em remansos de riachos ou

poças permanentes em bordas de mata ou áreas abertas, forma agregações (cardume), meses de ocorrência indeterminado.

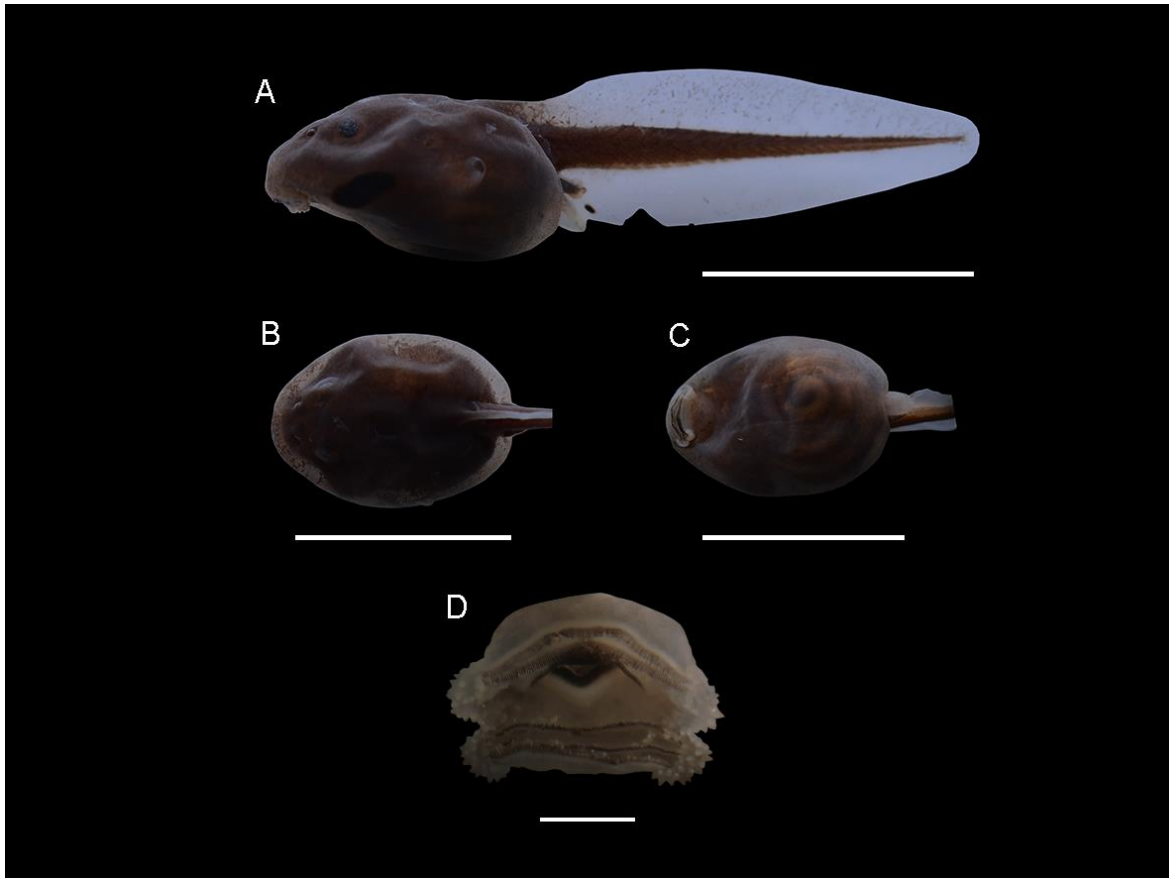


Figura 5. Girino de *Rhinella icterica* (UNIRIO 4638) no estágio 34: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT $28,74 \pm 3,1$ (32,5-25,57-26,02); CC $11,41 \pm 1,2$ (12,92-10,16); CCA $17,32 \pm 1,9$ (19,58-15,41); AMCA $5,79 \pm 0,7$ (6,8-4,8); AMC $1,95 \pm 0,5$ (2,89-1,43); LMC $1,36 \pm 0,3$ (1,78-1,05); LC $7,77 \pm 1,2$ (9,73-5,95); AC $6,35 \pm 1,1$ (8,45-5,68); DOF $2,69 \pm 0,3$ (3,03-2,06); DNF $1,36 \pm 0,1$ (1,51-1,05); DIO $3,38 \pm 0,3$ (3,92-3,08); DO $0,92 \pm 0,1$ (1,09-0,67); DIN $1,4 \pm 0,1$ (1,59-1,23); DN $0,41 \pm 0,03$ (1,59-1,23); LDO $3,02 \pm 0,2$ (3,57-2,75); AND $2,2 \pm 0,1$ (2,43-1,9); ANV $1,94 \pm 0,1$ (2,15-1,79).

Centrolenidae Taylor 1951

Vitreorana uranoscopa (Müller 1924)

Descrição do girino (Estágio 34; n = 1): Comprimento total máximo 49 mm (no estágio 34). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,77$); com comprimento referente à 0,26 vezes o comprimento total; elíptico em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** oval em vista lateral; arredondado dorsal. **Olhos:** tamanho médio ($DO/LC = 0,17$), localizados dorsalmente; orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,40$). **Narinas:** tamanho pequeno ($DN/LC = 0,03$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,37$), riniforme, borda marginal elevada, com projeção de bordo moderada, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateroventralmente, direcionado posterodorsalmente, abrindo-se no terço final do corpo ($DEF/CC = 0,78$). **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral não visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** pouco visível, recoberto pela musculatura abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, com extremidade livre, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** baixa ($AMCA/CCA = 0,16$); musculatura da cauda mediana ($AMC/AC = 0,63$); nadadeira dorsal ligeiramente maior que a ventral ($AND/ANV = 1,06$); terminação da cauda obtusa. Nadadeira dorsal baixa ($AND/CCA = 0,05$), com altura máxima entre o terço médio e final da cauda, margem externa paralela ao eixo longitudinal do corpo no terço inicial da cauda, variando para levemente convexo entre o terço médio e final, originando-se no terço inicial da cauda, sem inclinação abrupta. Nadadeira ventral baixa ($ANV/CCA = 0,05$), margem externa paralela ao eixo longitudinal do corpo no terço inicial da cauda, variando para levemente convexo entre o terço médio e final, originando-se no terço inicial da cauda, originando-se no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho médio ($LDO/LC = 0,54$), posicionado anteroventral; não emarginado; papilas marginais arredondadas; uniseriadas; com grande interrupção na parte superior; papilas submarginais ausentes; a fórmula do disco oral é (LTRF) 2(2)/3, $A1=A2$, $P1=P2>P3$, bico presente, bem desenvolvido, serrilhado, a

estrutura superior e inferior em formato de arco. **História natural:** hábito fossorial, não forma agregações (cardume), meses de ocorrência indeterminado, encontrado em riachos permanentes em ambientes florestais.

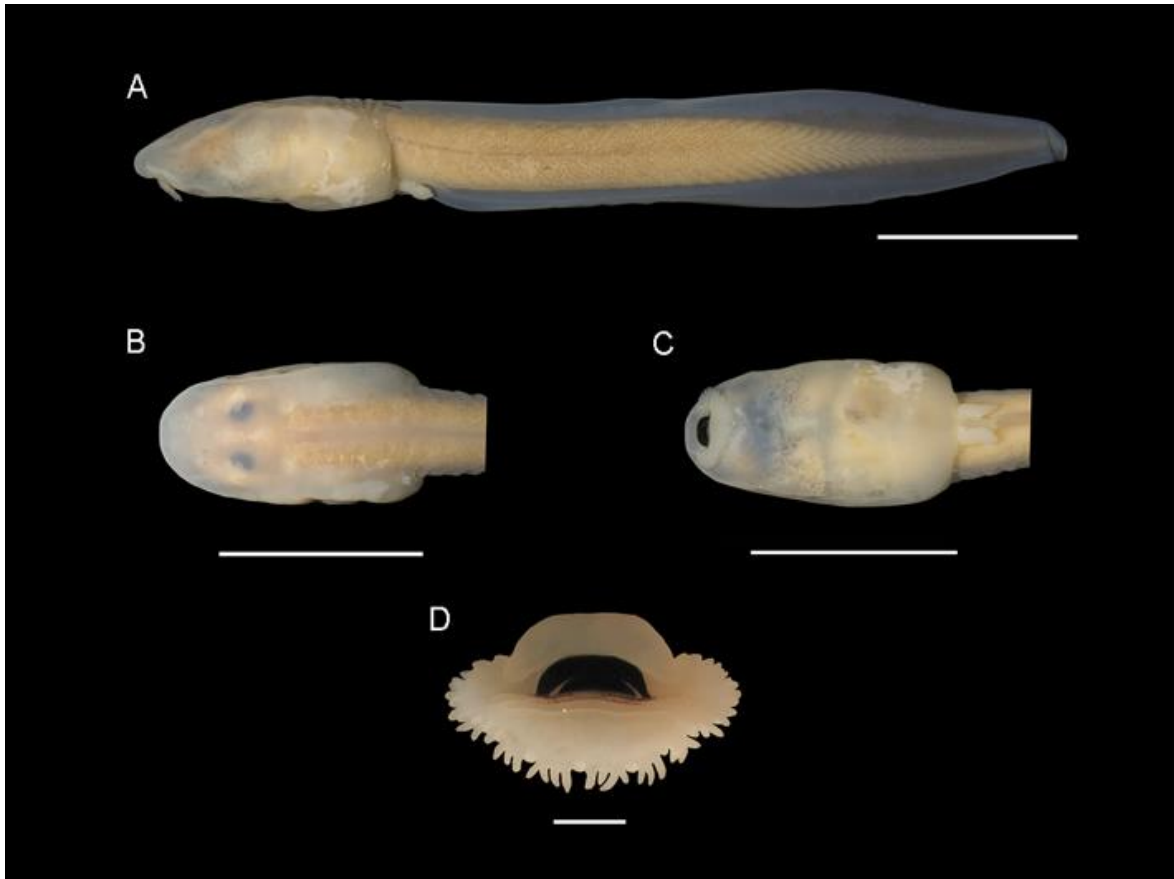


Figura 6. Girino de *Vitreorana uranoscopa* (UNIRIO 3710) no estágio 34: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT 49; CC 13,1; CCA 35,9; AMCA 5,81; AMC 3,39; LMC 4,12; LC 6,91; AC 5,38; DOF 4,3; DNF 1,84; DIO 2,8; DO 1,2; DIO 2,57; DN 0,23; DFE 10,27; LDO 3,78; AND 1,92; ANV 1,81.

Cycloramphidae Bonaparte 1850

Cycloramphus brasiliensis (Steindachner 1864)

Descrição do girino (Estágios 31-37; n = 4): Comprimento total máximo 36,12 mm (no estágio 37). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,65$); com comprimento referente à 0,24 vezes o

comprimento total; elíptico alongado em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** arredondado em vista lateral; arredondado ou truncado em vista dorsal. **Olhos:** tamanho grande ($DO/LC = 0,26$), localizados dorsolateralmente; orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,72$). **Narinas:** tamanho grande ($DN/LC = 0,06$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,25$), elíptica, borda marginal elevada, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** ausência de tubo do espiráculo, abertura única, sinistro, posicionado ventralmente, direcionado para parte lateral, abrindo-se no terço médio do corpo ($DEF/CC = 0,59$). **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral não visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** presença de flap abdominal estendendo-se por toda região ventral, dificultando a observação do tubo intestinal. **Tubo ventral:** com posição medial, direcionado para parte posterior do corpo, fundido ao flap abdominal. **Cauda:** baixa ($AMCA/CCA = 0,09$); musculatura da cauda robusta ($AMC/AC = 0,80$); nadadeira dorsal menor que a ventral ($AND/ANV = 0,74$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal baixa ($AND/CCA = 0,01$), com altura máxima no terço final da cauda, margem externa paralela ao eixo longitudinal do corpo, originando-se no terço médio da cauda, sem inclinação. Nadadeira ventral baixa ($ANV/CCA = 0,02$), com a margem externa paralela ao eixo longitudinal do corpo, originando-se no terço médio da cauda. **Disco oral:** tamanho grande ($LDO/LC = 0,67$), posicionado ventralmente; emarginado ventralmente; papilas marginais arredondadas; uniseriadas; com grande interrupção na parte superior; papilas submarginais ausentes; a fórmula do disco oral é (LTRF) $2(2)/3$, $A1=A2$, $P1=P2>P3$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior e a inferior apresentam um acúmulo de queratinização na região central do bico. **História natural:** hábito semi-terrestre, não forma agregações (cardume), meses de ocorrência indeterminado, encontrado associado a rochas e paredões em riachos permanentes em ambientes florestais à 730m.

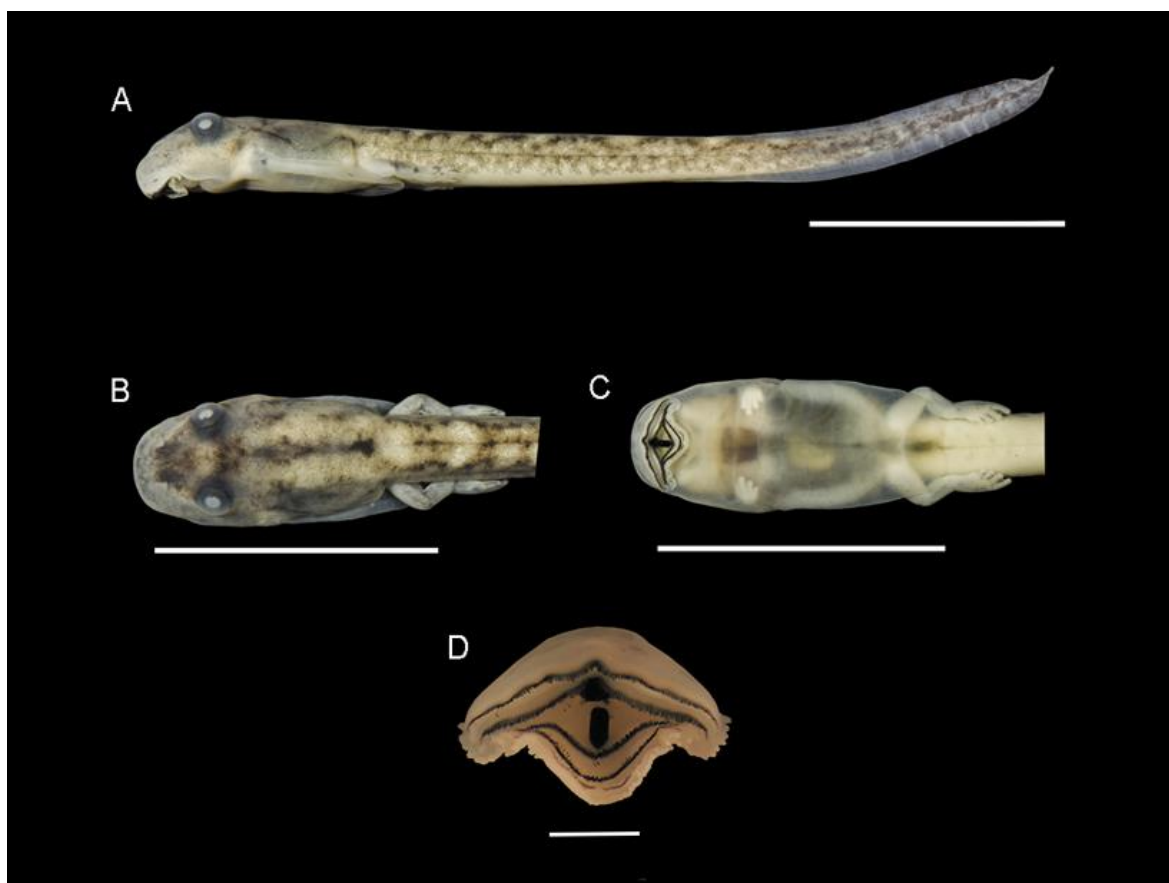


Figura 7. Girino de *Cycloramphus brasiliensis* (UNIRIO 6463) no estágio 37: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT $34,12 \pm 1,9$ (36,12-31,62); CC $8,31 \pm 0,5$ (8,86-7,72); CCA $25,81 \pm 1,4$ (27,41-23,9); AMCA $2,34 \pm 0,3$ (2,87-1,98); AMC $2,34 \pm 0,3$ (2,87-1,98); LMC $2,25 \pm 0,4$ (2,8-1,91); LC $4,46 \pm 0,7$ (5,41-3,81); AC $2,9 \pm 0,2$ (3,27-2,63); DOF $2,75 \pm 0,2$ (3,04-2,53); DNF $1,09 \pm 0,3$ (1,4-0,71); DIO $3,22 \pm 0,2$ (3,55-3,02); DO $1,16 \pm 0,07$ (1,26-1,09); DIN $1,15 \pm 0,1$ (1,27-1,01); DN $0,28 \pm 0,1$ (0,38-0,17); DFE $4,91 \pm 0,4$ (5,53-4,44); LDO $3,01 \pm 0,1$ (3,23-2,77); AND $0,49 \pm 0,08$ (0,55-0,37); ANV $0,66 \pm 0,1$ (0,9-0,56).

Hylidae Rafinesque 1815

Aplastodiscus arildae (Cruz & Peixoto 1987)

Descrição do girino (Estágios 31-36; n = 8). Comprimento total máximo 64,43 mm (no estágio 33). **Corpo:** deprimido (AC/LC = 0,76); com comprimento referente à 0,29 vezes o

comprimento total; elíptico em vista dorsal; em vista lateral, contorno levemente convexo da região peribrânquial ao abdomen. **Focinho:** arredondado em vista lateral e oval em vista dorsal (Figura 9). **Olhos:** tamanho pequeno ($DO/LC = 0,14$), localizados dorsalmente e orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,57$). **Narinas:** tamanho médio ($DN/LC = 0,05$), posicionadas dorsalmente e direcionadas dorso-lateralmente ($DIN/LC = 0,34$), reniformes, com projeções marginais em formato triangular ou trapezoidal, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, posterodorsalmente direcionado, abrindo-se no terço médio do corpo ($DEF/CC = 0,55$), parede interna do tubo presente, fundida ao corpo, com uma grande extremidade livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis e acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** pouco visível, enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda** altura média ($AMCA/CCA = 0,25$); musculatura da cauda robusta ($AMC/AC = 0,75$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,30$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,078$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem levemente convexa, originando-se no terço posterior do corpo com uma pequena inclinação. Nadadeira ventral baixa ($ANV/CCA = 0,06$), com a margem externa pouco convexa e se origina no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno ($LDO/LC = 0,36$), posicionado ventralmente, com três emarginações na parte inferior, fileira uniseriada de papilas marginais na parte superior, dupla na parte lateral e inferior, pequena interrupção das fileiras de papilas na região superior, papilas submarginais presentes, grandes, com distribuição esparsa; a fórmula do disco oral (LTRF) $2(2)/4(1)$, $A1=A2$, $P1=P2>P3>P4$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de arco e a inferior de V. **História natural:** hábito lótico bentônico, não forma agregações (cardume), ocorre em todas as

estações do ano, encontrado em remansos de riachos permanentes em ambientes florestais, distribuindo-se de 730-1265m.

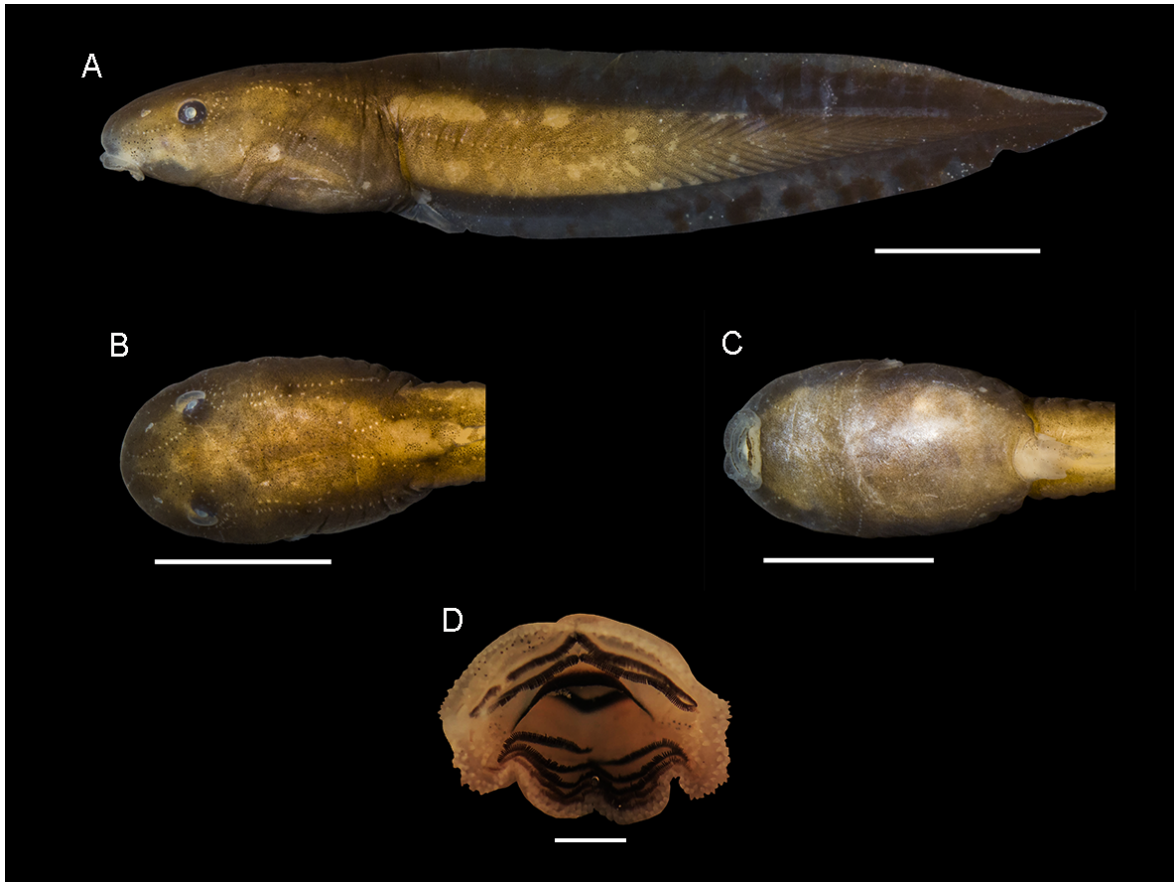


Figura 8. Girino de *Aplastodiscus arildae* (UNIRIO 5259) no estágio 35: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (UNIRIO 4369) (escala = 1 mm).

Medidas. CT $61,31 \pm 2,39$ (64,43-57,35); CC $17,83 \pm 1,1$ (19,64-16,25); CCA $43,47 \pm 2,1$ (46,86-39,97); AMCA $10,84 \pm 1,0$ (13-9,38); AMC $6,18 \pm 0,6$ (7,21-5,08); LMC $5,57 \pm 0,6$ (6,85-5,01); LC $10,74 \pm 0,5$ (11,8-9,97); AC $8,18 \pm 0,3$ (8,78-7,78); DOF $4,57 \pm 0,3$ (4,95-4,17); DNF $2,05 \pm 0,1$ (2,28-1,86); DIO $6,13 \pm 0,5$ (7,18-5,47); DO $1,54 \pm 0,2$ (1,9-1,24); DIN $3,72 \pm 0,2$ (4,09-3,42); DN $0,59 \pm 0,07$ (0,78-0,52); DEF $9,88 \pm 0,6$ (10,69-8,95); LDO $3,93 \pm 0,5$ (4,95-3,23); AND $3,42 \pm 0,4$ (4,03-2,61); ANV $2,61 \pm 0,4$ (3,33-1,88).

Aplastodiscus eugenioi (Carvalho-e-Silva & Carvalho-e-Silva 2005)

Descrição do girino (Estágios 38; n = 1): Comprimento total máximo 48,5 mm (no estágio 38). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,76$); com comprimento referente à 0,25 vezes o comprimento total; elíptico em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** arredondado em vista lateral e oval (elíptico) em vista dorsal. **Olhos:** tamanho médio ($DO/LC = 0,21$), localizados e orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,59$). **Narinas:** tamanho grande ($DN/LC = 0,07$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,37$), riniforme, com projeção no bordo interno de formato triangular chegando até a parte média da abertura nasal; mais próximas dos olhos que do focinho. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, direcionado para parte posterodorsal, abrindo-se no terço médio do corpo ($DEF/CC = 0,59$), parede interna do tubo presente, totalmente livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, com acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** baixa ($AMCA/CCA = 0,17$); musculatura da cauda robusta ($AMC/AC = 0,70$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,24$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal baixa ($AND/CCA = 0,04$), com altura máxima no terço inicial da cauda, margem pouco convexa ou paralela ao eixo longitudinal do corpo, originando-se no terço inicial da cauda, com inclinação moderada. Nadadeira ventral baixa ($ANV/CCA = 0,03$), com a margem externa paralela ao eixo do corpo, originando-se no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno ($LDO/LC = 0,33$), posicionado anteroventralmente; com três emarginações na parte inferior; papilas marginais com pequena interrupção na parte superior; com fileira uniseriada de papilas por todo disco; papilas submarginais ausentes; a fórmula do disco oral é (LTRF) 2(2)/4(1), $A1 > A2$, $P1 = P2 = P3 > P4$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de arco e a

inferior de V. **História natural:** hábito lótico bentônico, não forma agregações (cardume), meses de ocorrência indeterminado, encontrado em riachos permanentes em ambientes florestais, distribuindo-se até 412m.

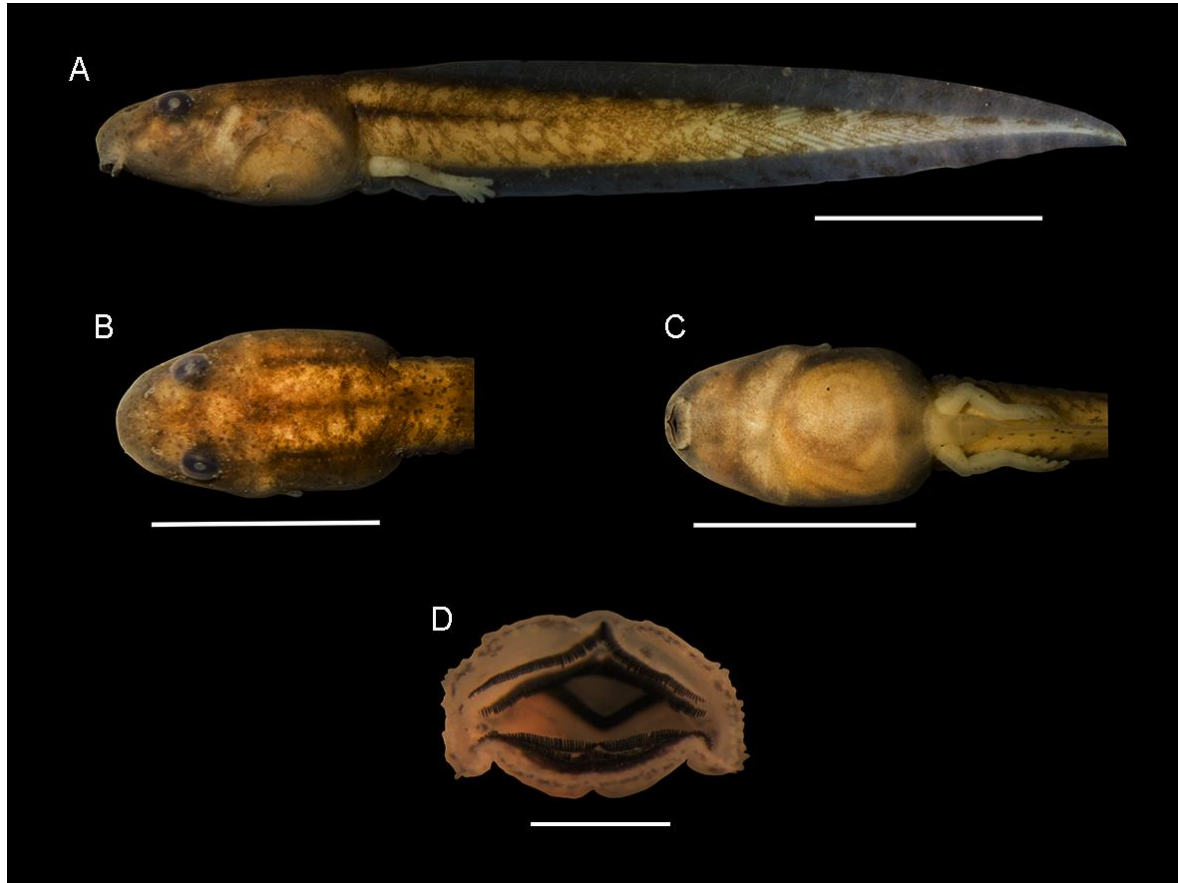


Figura 9. Girino de *Aplastodiscus eugenioi* (UNIRIO 5448) no estágio 38: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT 48,5; CC 12,52; CCA 35,98; AMCA 6,22; AMC 3,89; LMC 3,73; LC 7,22; AC 5,49; DOF 3,43; DNF 1,48; DIO 4,31; DO 1,56; DIO 2,69; DN 0,55; DFE 7,45; LDO 2,43; AND 1,51; ANV 1,21.

Aplastodiscus leucopygius (Cruz & Peixoto 1985)

Descrição do girino (Estágios 31-35; n = 6). Comprimento total máximo 68,98 mm (no estágio 34). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,83$); com comprimento referente à 0,32 vezes o comprimento total; elíptico ou ovoide em vista dorsal; em vista lateral, contorno levemente

convexo da região peribranquial ao abdômen. **Focinho:** arredondado em vista lateral e oval em vista dorsal. **Olhos:** tamanho pequeno ($DO/LC = 0,14$), localizados dorsalmente, orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,53$). **Narinas:** tamanho médio ($DN/LC = 0,05$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorso-lateralmente ($DIN/LC = 0,32$), reniformes, com projeções marginais bem desenvolvidas em formato trapezoidal, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, extremidade despigmentada, posicionado lateralmente, abertura direcionada para parte posterodorsal, abrindo-se no terço médio do corpo ($DEF/CC = 0,55$), parede interna do tubo presente, fundida ao corpo, com uma pequena extremidade livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis e acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** pouco visível, enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,31$); musculatura da cauda robusta ($AMC/AC = 0,65$), com uma faixa contínua na região mediana da musculatura; nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,46$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,11$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem convexa, originando-se no terço posterior do corpo, com inclinação. Nadadeira ventral baixa ($ANV/CCA = 0,07$), com a margem externa pouco convexa e se origina no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno ($LDO/LC = 0,34$), posicionado ventralmente, com três emarginações na parte inferior, fileira uniseriada de papilas marginais na parte superior e lateral e dupla na parte inferior, pequena interrupção das fileiras de papilas na região superior, papilas submarginais presentes, com distribuição esparsa na região lateral; a fórmula do disco oral (LTRF) $2(2)/4(1)$, $A1=A2$, $P1=P2=P3>P4$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de arco e a inferior de V. **História natural:** hábito lótico bentônico, não forma agregações

(cardume), ocorre no outono, inverno e primavera, encontrado em remansos de riachos permanentes em ambientes florestais, distribuindo-se de 1134-1265m.

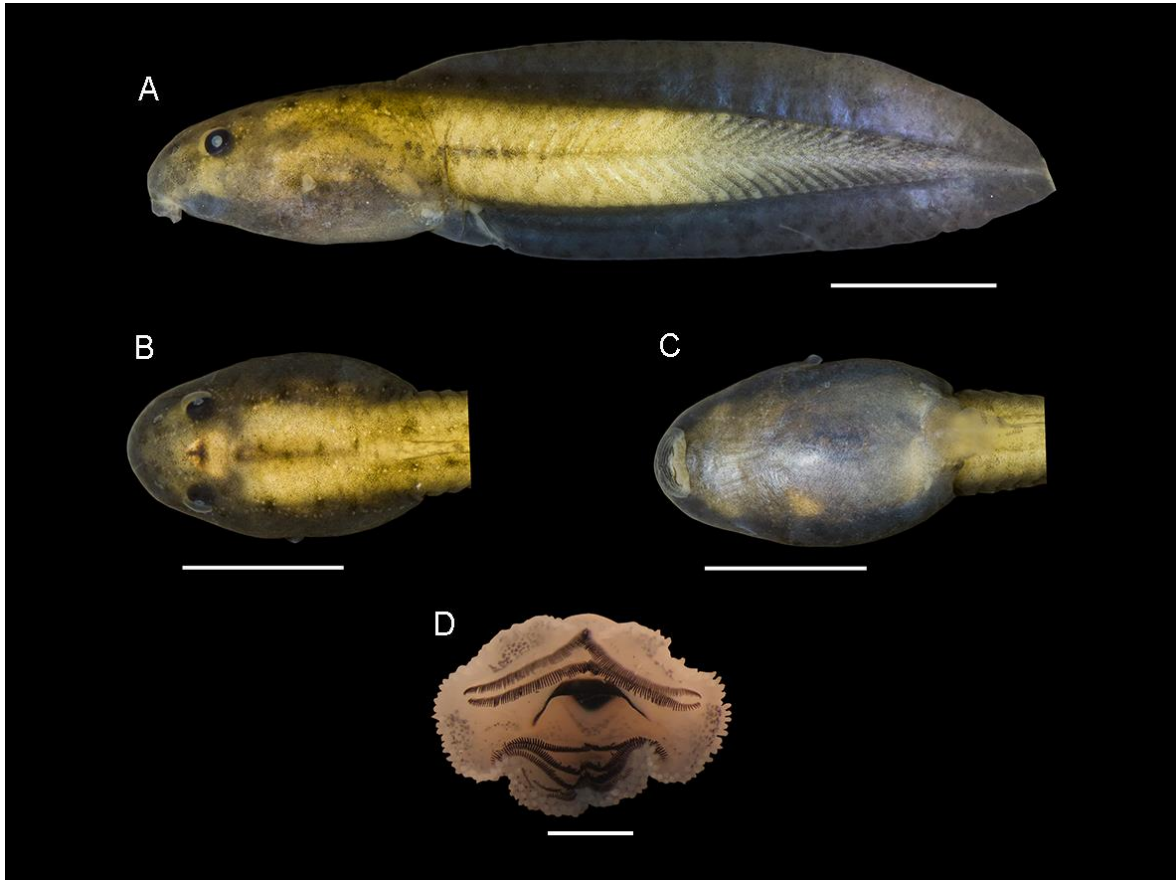


Figura 10. Girino de *Aplastodiscus leucopygius* (UNIRIO 6380) no estágio 31: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (UNIRIO 1919) (escala = 1 mm).

Medidas. CT 63,43±4,4 (68,98-56,92); CC 20,93±1,6 (22,1-17,73); CCA 42,5±3,3 (47,31-39,19); AMCA 13,25±1,0 (14,28-11,4); AMC 6,93±0,6 (7,63-5,86); LMC 6,08±0,7 (7,17-5,33); LC 12,77±1,1 (13,98-11,06); AC 10,63±1,0 (11,91-9,19); DOF 5,57±0,3 (6,02-5,03); DNF 2,62±0,3 (2,97-2,17); DIO 6,88±0,6 (7,75-5,79); DO 1,89±0,1 (2,04-1,7); DIN 4,19±0,2 (4,67-3,76); DN 0,69±0,1 (0,79-0,5); DFE 11,54±0,8 (12,27-9,98); LDO 4,34±0,1 (4,54-4,08); AND 4,88±0,3 (5,35-4,22); ANV 3,34±0,3 (3,75-2,97).

Bokermannohyla carvalhoi (Peixoto 1981)

Descrição do girino (Estágios 31-37; n = 8): Comprimento total máximo 62,82 mm (no estágio 31). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,74$); com comprimento referente à 0,36 vezes o comprimento total; elíptico ou ovóide em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** arredondado em vista lateral; oval, raramente pontudo em vista dorsal. **Olhos:** tamanho pequeno ($DO/LC = 0,12$), localizados dorsalmente; orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,46$). **Narinas:** tamanho pequeno ($DN/LC = 0,041$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,28$), riniforme, com projeção no bordo interno com formato triangular, mais próximas dos olhos do que do focinho. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, direcionado para parte posterior do corpo, abrindo-se no terço médio do corpo ($DEF/CC = 0,56$), parede interna do tubo presente, pequena extremidade livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, com acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,37$); musculatura da cauda mediana ($AMC/AC = 0,57$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,36$); terminação da cauda obtusa ou arredondada. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,13$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem convexa, originando-se na junção entre o corpo e a musculatura da cauda, com inclinação abrupta. Nadadeira ventral média ($ANV/CCA = 0,09$), com a margem convexa, originando-se no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno ($LDO/LC = 0,34$), posicionado anteroventralmente; emarginado três emarginações ventrais; papilas marginais com pequena interrupção na parte superior; uniseriada na parte superior e lateral, dupla na parte inferior; papilas submarginais ausentes; a fórmula do disco oral é (LTRF) 2(2)/4(1), $A1=A2$, $P1 < P2=P3 > P4$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de arco

e a inferior de V. **História natural:** hábito lótico bentônico; não forma agregações (cardume); ocorre em todas as estações; encontrado em remansos de riachos permanentes em ambientes florestais; distribuindo-se de 1042-1321m.

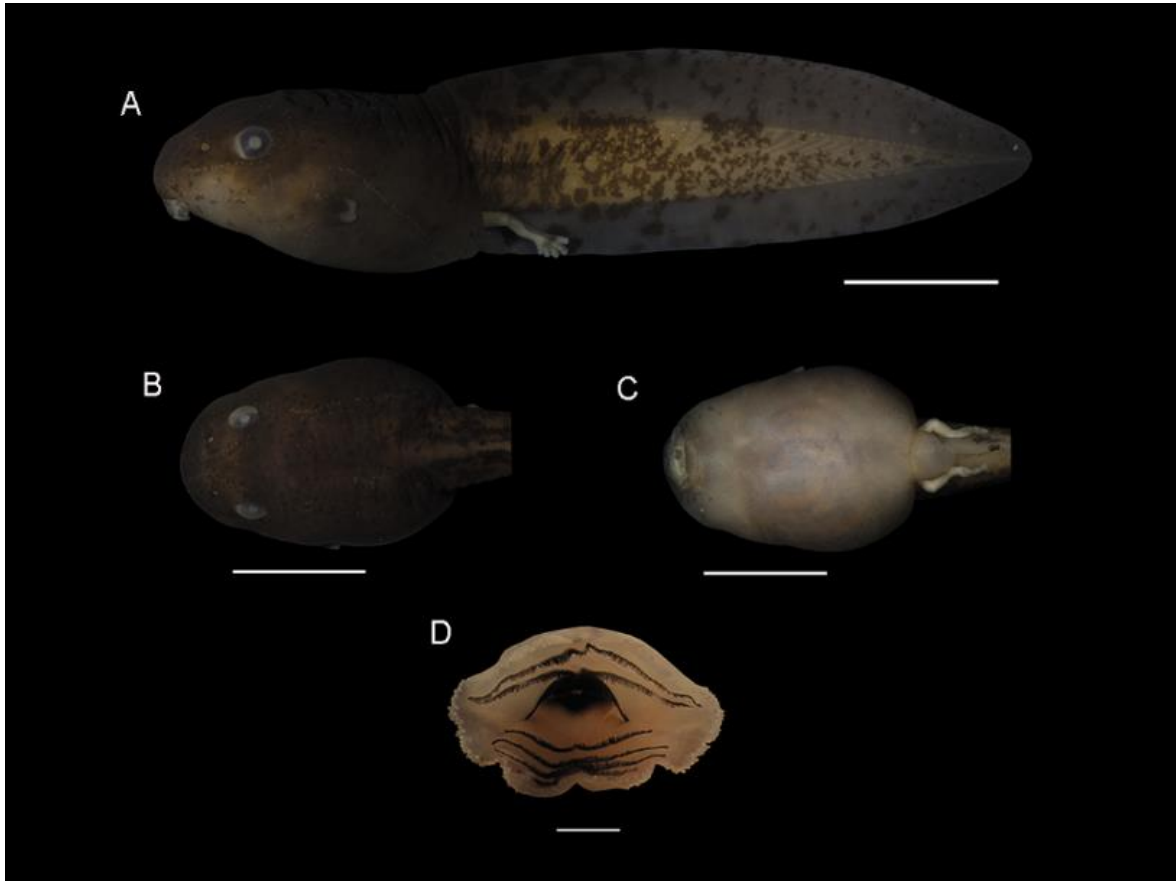


Figura 11. Girino de *Bokermannohyla carvalhoi* (UNIRIO 6431) no estágio 37: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT 56,62±4,5 (62,82-50,94); CC 20,75±0,9 (21,88-18,93); CCA 35,86±3,8 (40,94-30,75); AMCA 13,42±1,0 (14,81-12,18); AMC 5,99±0,6 (6,83-5); LMC 4,77±0,7 (6,06-3,93); LC 13,99±1,0 (15,86-12,64); AC 10,38±1,1 (12,12-8,64); DOF 5,24±0,6 (6,22-4,22); DNF 2,89±0,2 (3,17-2,53); DIO 6,45±0,3 (6,84-5,95); DO 1,73±0,1 (1,95-1,55); DIN 4±0,2 (4,26-3,61); DN 0,58±0,07 (0,67-0,49); DFE 11,72±1,0 (13,39-9,75); LDO 4,84±0,4 (5,3-4,17); AND 4,7±0,4 (5,31-4,05); ANV 3,45±0,5 (4,18-2,54)

Bokermannohyla circumdata (Cope 1871)

Descrição do girino (Estágios 31-37; n = 8): Comprimento total máximo 49,92 mm (no estágio 37). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,80$); com comprimento referente à 0,32 vezes o comprimento total; elíptico, raramente ovoide em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** arredondado em vista lateral e dorsal. **Olhos:** tamanho médio ($DO/LC = 0,16$), localizados dorsalmente; orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,53$). **Narinas:** tamanho grande ($DN/LC = 0,06$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,31$), riniforme, borda marginal elevada, com projeção no bordo interno podendo variar de formato triangular, trapezoide ou circular, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, direcionado para parte posterodorsal, abrindo-se no terço médio do corpo ($DEF/CC = 0,57$), parede interna do tubo presente, totalmente livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, com acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,25$); musculatura da cauda robusta ($AMC/AC = 0,65$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,32$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal baixa ($AND/CCA = 0,07$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem pouco convexa ou paralela ao eixo longitudinal do corpo, originando-se no terço posterior do corpo com inclinação abrupta. Nadadeira ventral baixa ($ANV/CCA = 0,05$), com a margem externa paralela ao eixo do corpo, originando-se no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno ($LDO/LC = 0,34$), posicionado anteroventralmente; emarginado ventralmente; papilas marginais com pequena interrupção na parte superior; com fileira dupla de papilas cônicas por todo disco, raramente uma fileira na parte superior e dupla na parte lateral e inferior; papilas submarginais ausentes; a fórmula do disco oral é (LTRF) 2(2)/3(1), $A1=A2$, $P1=P2=P3$, bico presente, serrilhado, a

estrutura superior tem formato de arco e a inferior de V. **História natural:** hábito lótico bentônico; não forma agregações (cardume); ocorre em todas as estações; encontrado em remansos de riachos permanentes em ambientes florestais; distribuindo-se de 1042-1321m.

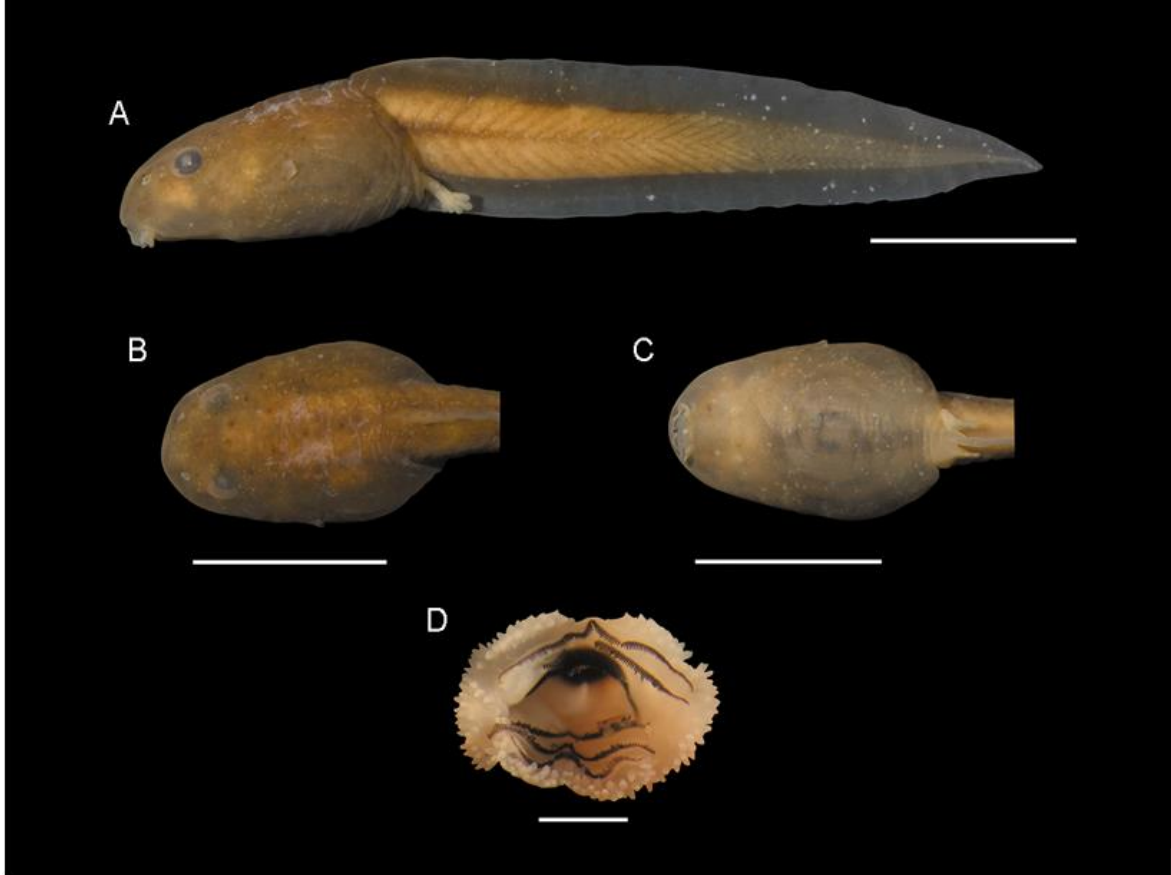


Figura 12. Girino de *Bokermannohyla circumdata* (UNIRIO 1790) no estágio 35: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT 45,78±2,9 (49,92-41,64); CC 14,96±1,7 (18,88-13,29); CCA 30,81±2,0 (34,78-28,35); AMCA 7,86±0,7 (8,91-6,71); AMC 4,55±0,6 (5,29-3,57); LMC 3,74±0,5 (4,25-2,77); LC 8,7±0,7 (9,72-7,28); AC 6,97±0,7 (7,76-5,7); DOF 3,93±0,5 (4,72-3,07); DNF 1,7±0,5 (2,48-1,03); DIO 4,68±0,4 (5,3-3,84); DO 1,45±0,2 (1,87-1,09); DIN 2,77±0,1 (3,07-2,59); DN 0,53±0,04 (0,5-0,64); DEF 8,56±0,8 (9,42-7,06); LDO 2,98±0,2 (3,31-2,55); AND 2,16±0,2 (2,51-1,83); ANV 1,64±0,31 (2,03-1,06).

Oloolygon albicans (Bokermann 1967)

Descrição do girino (Estágios 31-37; n = 10): Comprimento total máximo 31,92 mm (no estágio 35). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,81$); com comprimento referente à 0,35 vezes o comprimento total; globular em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** arredondado em vista lateral e dorsal. **Olhos:** tamanho médio ($DO/LC = 0,18$), localizados e orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,75$). **Narinas:** grandes ($DN/LC = 0,06$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,37$), circulares, borda marginal elevada, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateroventralmente, direcionado para parte posterior, abrindo-se no terço posterior do corpo ($DEF/CC = 0,68$), parede interna do tubo presente, fundida inteiramente ao corpo. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,34$); musculatura da cauda média ($AMC/AC = 0,47$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,41$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,12$), com altura máxima no terço inicial da cauda, margem convexa, originando-se no terço posterior do corpo inclinação moderada. Nadadeira ventral média ($ANV/CCA = 0,09$), com a margem externa convexa e se origina no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho médio ($LDO/LC = 0,48$), posicionado ventralmente; ausência de emarginações; ausência de interrupções nas fileiras de papilas marginais; com uma fileira de papilas cônicas na região superior e três fileiras na parte inferior; papilas submarginais presentes e numerosas na parte lateral; a fórmula do disco oral é (LTRF) $2(2)/3$, $A1=A2$, $P1=P2=P3$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de M e a inferior de V. **História natural:** hábito lótico bentônico, não forma agregações (cardume), ocorre em todas as estações do ano, encontrado

em remansos de riachos permanentes e temporários em ambientes florestais ou abertos, distribuindo-se de 412-1265m.



Figura 13. Girino de *Ololygon albicans* (UNIRIO 5628) no estágio 31: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT 28,45±2,5 (31,92-24,92); CC 10,01±1,0 (11,61-8,85); CCA 18,443±1,6 (20,55-16,07); AMCA 6,32±0,9 (7,66-5,04); AMC 2,6±0,4 (3,15-1,99); LMC 2,1±0,2 (2,66-1,71); LC 6,75±0,7 (7,99-5,58); AC 5,5±0,6 (6,51-4,48); DOF 3,94±0,5 (3,05-4,95); DNF 1,85±0,3 (2,46-1,36); DIO 5,06±0,4 (5,88-4,42); DO 1,27±0,1 (1,52-1,02); DIN 2,5±0,2 (2,85-2,18); DN 0,39±0,1 (0,56-0,27); DFE 6,84±1,1 (8,2-4,48); LDO 3,26±0,4 (4,08-2,76); AND 2,28±0,5 (3,03-1,43); ANV 1,61±0,3 (2,16-1,19).

Ololygon flavoguttata (Lutz & Lutz 1939)

Descrição do girino (Estágios 34-36; n = 4): Comprimento total máximo 34,36 mm (no estágio 92). **Corpo:** globular ($AC/LC = 0,92$); com comprimento referente à 0,33 vezes o comprimento total; arredondado em vista dorsal, arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** arredondado em vista lateral e dorsal. **Olhos:** tamanho médio ($DO/LC = 0,18$), localizados e orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,68$). **Narinas:** pequenas ($DN/LC = 0,042$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,43$), circulares, sem projeção de bordo interno, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateroventralmente, direcionado para parte posterior, abrindo-se no terço posterior do corpo ($DEF/CC = 0,64$), parede interna do tubo presente, fundida ao corpo, pequena extremidade livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral pouco visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,38$); musculatura da cauda média ($AMC/AC = 0,44$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,26$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal alta ($AND/CCA = 0,14$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem convexa, originando-se no terço médio do corpo, com inclinação moderada. Nadadeira ventral média ($ANV/CCA = 0,11$), com a margem externa convexa e se origina no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho médio ($LDO/LC = 0,51$), posicionado ventralmente; ausência de emarginações; ausência de interrupções nas fileiras de papilas marginais; com três fileira de papilas na região superior e três fileiras na parte inferior; papilas submarginais presentes e numerosas na parte lateral; a fórmula do disco oral é (LTRF) $2(2)/3$, $A1=A2$, $P1=P2=P3$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de M e a inferior de V. **História natural:** hábito lótico bentônico, não forma agregações (cardume), ocorre em todas as

estações do ano, encontrado em remansos de riachos permanentes em ambientes florestais, distribuindo-se de 1024-1265 m.

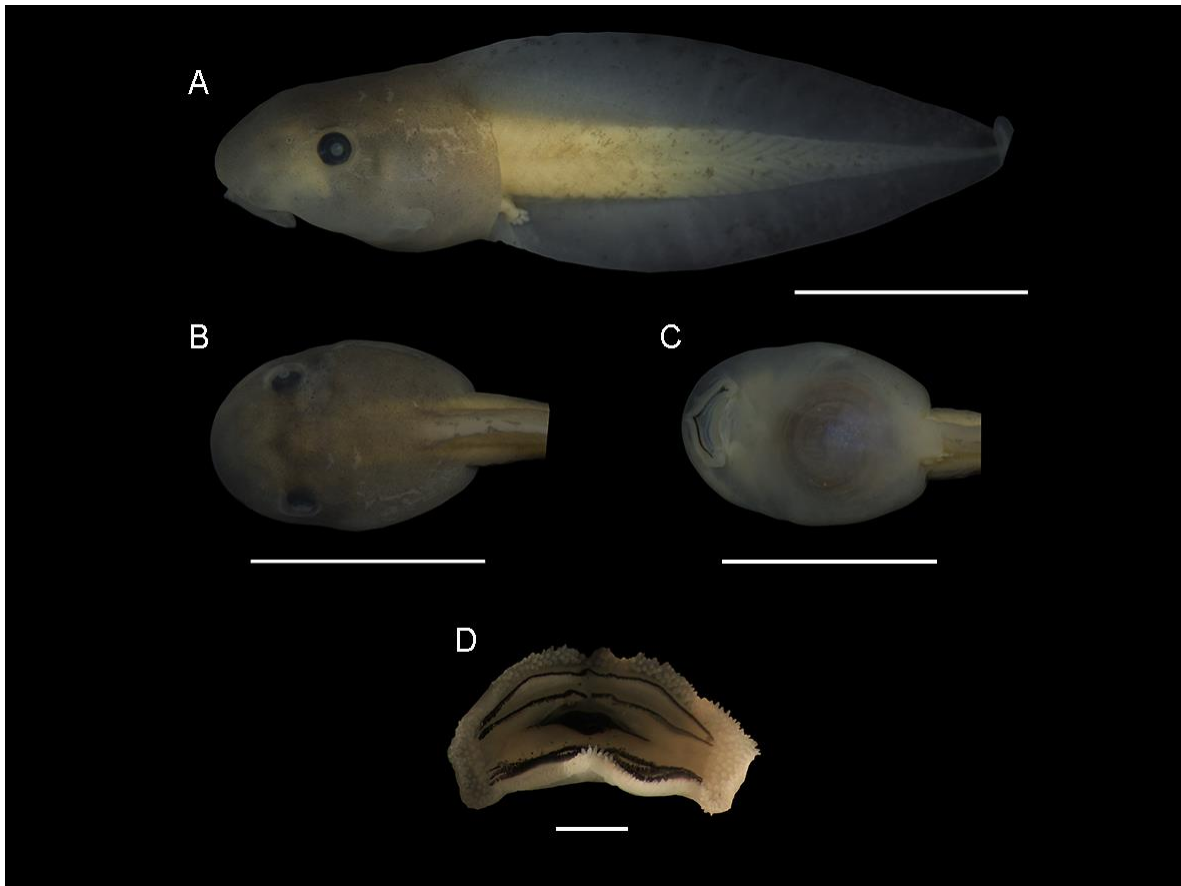


Figura 14. Girino de *Ololygon flavoguttata* (UNIRIO 6440) no estágio 34: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT 31,74±2,2 (34,36-29,05); CC 10,69±0,5 (11,4-10,17); CCA 21,05±2,0 (23,9-18,88); AMCA 8,38±0,7 (9,21-7,59); AMC 2,9±0,3 (3,38-2,55); LMC 2,39±0,5 (2,76-1,67); LC 7,41±0,4 (7,84-6,92); AC 6,95±0,2 (7,09-6,64); DOF 3,85±0,5 (4,64-3,49); DNF 1,9±0,3 (2,36-1,58); DIO 5,11±0,3 (5,57-4,89); DO 1,4±0,04 (1,46-1,37); DIN 3,26±0,08 (3,38-3,2); DN 0,34±0,04 (0,41-0,31); DFE 6,89±0,4 (7,5-6,38); LDO 3,82±0,24 (4,01-3,47); AND 3,09±0,5 (3,67-2,34); ANV 2,5±0,4 (2,96-2,01).

Ololygon obtriangulata (Lutz 1973)

Descrição do girino (Estágios 31-35; n = 6): Comprimento total máximo 29,17 mm (no estágio 35). **Corpo:** globular (AC/LC = 0,84); com comprimento referente à 0,40 vezes o comprimento total; globular em vista dorsal, triangular em vista lateral. **Focinho:** arredondado em vista dorsal e lateral (Figura). **Olhos:** tamanho pequeno (DO/LC = 0,15), localizados e orientados dorsolateralmente (DIO/LC = 0,69). **Narinas:** pequena (DN/LC = 0,04), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente (DIN/LC = 0,37), circulares, borda marginal elevada, projeção de bordo interno ausente, mais próximas dos olhos do que do focinho. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, direcionado para parte posterodorsal, abrindo-se no terço posterior do corpo (DEF/CC = 0,63), parede interna do tubo presente, pequena extremidade livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** alta (AMCA/CCA = 0,51); musculatura da cauda delgada (AMC/AC = 0,38); nadadeira dorsal maior que a ventral (AND/ANV = 1,11); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal alta (AND/CCA = 0,19), com altura máxima no terço inicial da cauda, margem convexa, originando-se no terço posterior do corpo inclinação moderada. Nadadeira ventral alta (ANV/CCA = 0,17), com a margem externa convexa e se origina no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno (LDO/LC = 0,40), posicionado anteroventralmente; ausência de emarginações; pequena interrupção superior na fileira de papilas marginais; com fileira uniseriada de papilas arredondadas na região superior e lateral e duas fileiras na parte inferior; papilas submarginais presentes e numerosas na parte lateral; a fórmula do disco oral é (LTRF) 2(2)/3, A1=A2, P1=P2=P3, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de M e a inferior de V. **História natural:** hábito lótico bentônico, não forma

agregações (cardume), ocorre na primavera, verão e raramente no inverno, encontrado em remansos de riachos permanentes e temporários em ambientes florestais, distribuindo-se acima de 1321m.

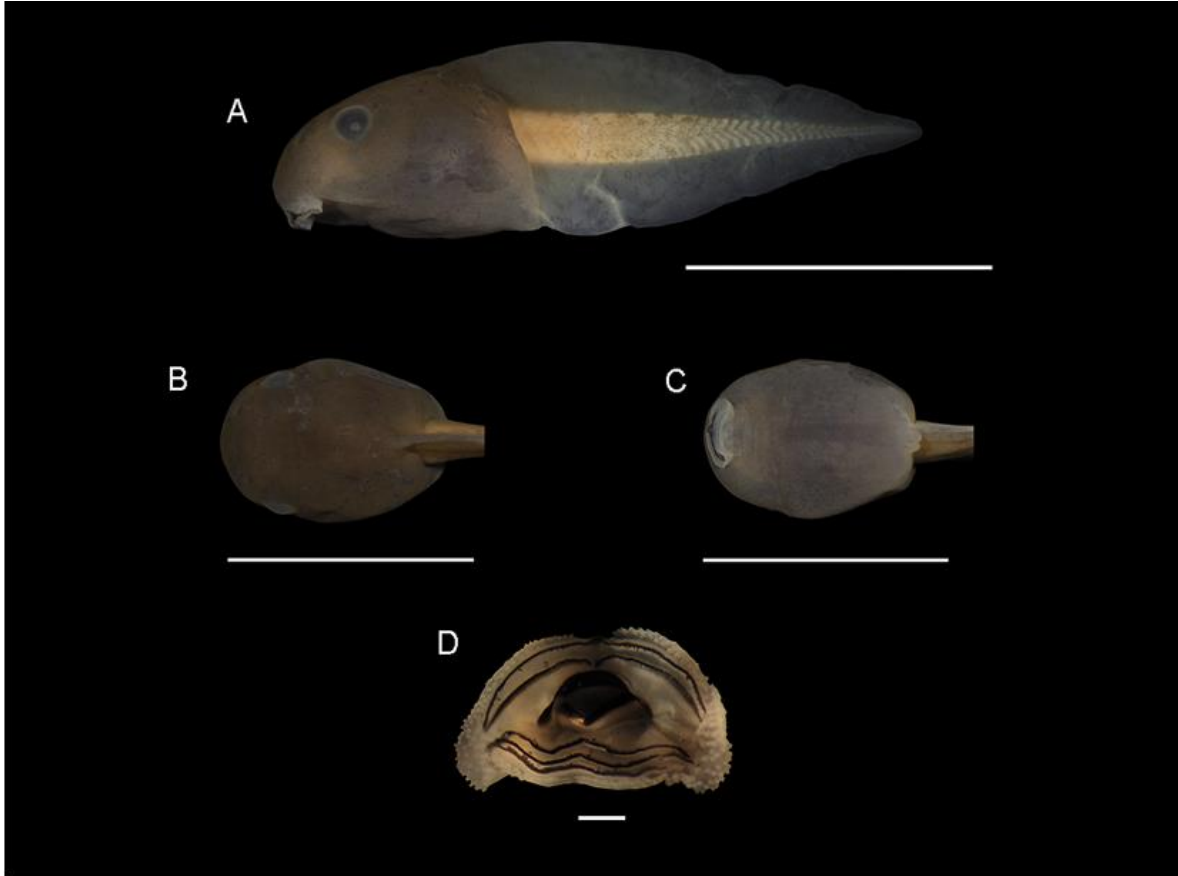


Figura 15. Girino de *Ololygon obtriangulata* (UNIRIO 5506) no estágio 31: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (UNIRIO 6448) (escala = 1 mm).

Medidas. CT 26,49±2,21 (29,17-22,94); CC 10,69±0,4 (11,16-10,0); CCA 15,80±1,8 (18,01-12,94); AMCA 8,2±0,9 (9,6-7,13); AMC 2,4±0,1 (2,78-2,27); LMC 2,08±0,2 (2,6-1,82); LC 7,52±0,4 (8,22-7,07); AC 6,32±0,6 (6,96-5,1); DOF 3,1±0,3 (3,59-2,73); DNF 1,5±0,2 (1,94-1,28); DIO 5,25±0,2 (5,66-4,97); DO 1,14±0,07 (1,24-1,06); DIN 2,8±0,2 (3,2-2,49); DN 0,31±0,02 (0,35-0,28); LDO 3,04±0,4 (3,55-2,54); AND 3,1±0,4 (3,76-2,61); ANV 2,77±0,4 (3,31-2,09)

Ololygon sp.

Descrição do girino (Estágios 33-37; n = 7): Comprimento total máximo 30,33 mm (no estágio 37). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,84$); com comprimento referente à 0,35 vezes o comprimento total; globular em vista dorsal. **Focinho:** arredondado em vista lateral e dorsal. **Olhos:** tamanho médio ($DO/LC = 0,19$), localizados e orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,69$). **Narinas:** pequenas ($DN/LC = 0,03$), posicionadas e direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,45$), circulares, mais próximas dos olhos que do focinho. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateroventralmente, direcionado para parte posterior, abrindo-se no terço posterior do corpo ($DEF/CC = 0,68$), parede interna do tubo presente, fundida inteiramente ao corpo. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,32$); musculatura da cauda média ($AMC/AC = 0,50$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,37$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,10$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem convexa, originando-se no terço posterior do corpo inclinação moderada. Nadadeira ventral média ($ANV/CCA = 0,08$), com a margem externa convexa e se origina no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho médio ($LDO/LC = 0,56$), posicionado ventralmente; ausência de emarginações; ausência de interrupções nas fileiras de papilas marginais; com três fileiras de papilas em todo disco oral; papilas submarginais presentes na parte lateral; a fórmula do disco oral é (LTRF) 2(2)/3, $A1=A2$, $P1=P2=P3$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de M e a inferior de V. **História natural** hábito lótico bentônico, não forma agregações (cardume), ocorre em todas as estações do ano, encontrado em remansos de riachos permanentes em ambientes florestais, distribuindo-se de 412 – 740m.

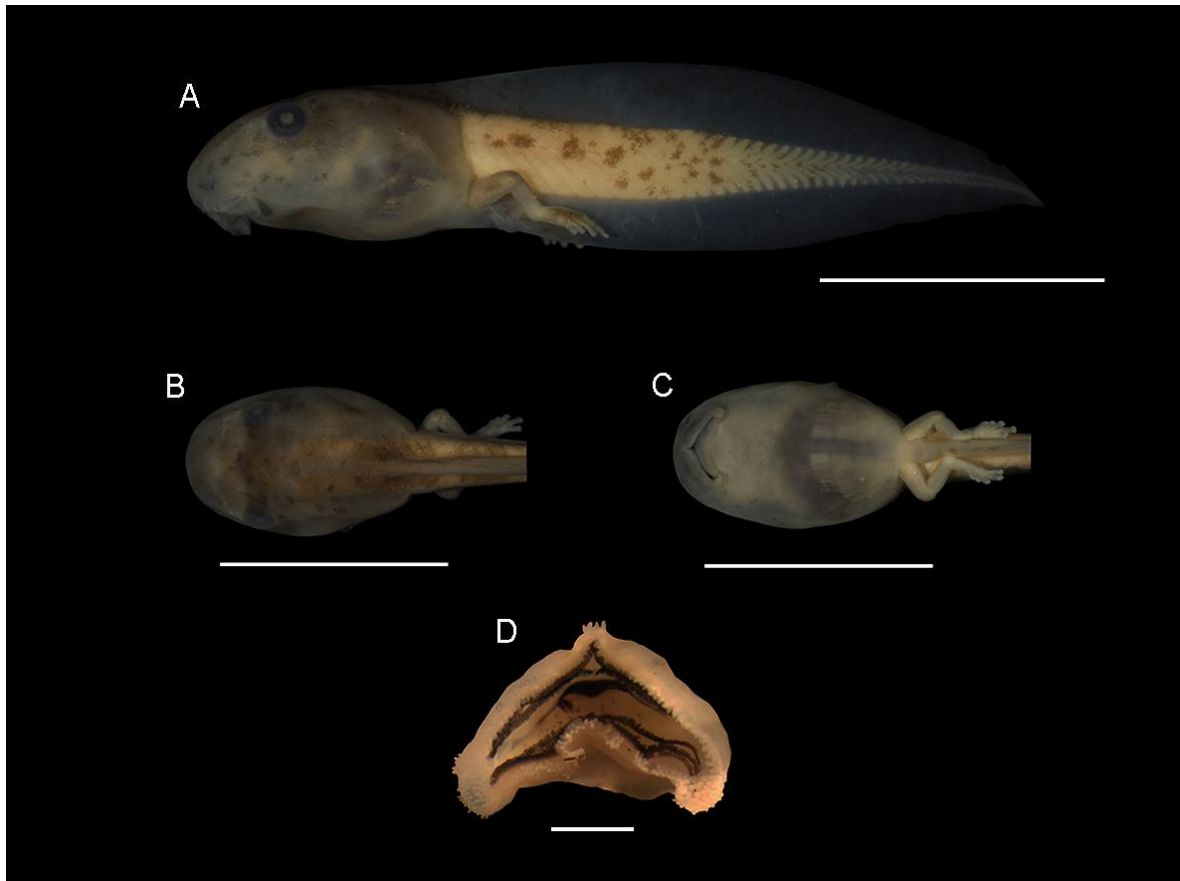


Figura 16. Girino de *Ololygon sp.* (UNIRIO 5208) no estágio 37: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT $25,77 \pm 2,5$ (30,33-22,07); CC $9,09 \pm 0,5$ (9,76-8,52); CCA $16,67 \pm 2,0$ (20,57-13,55); AMCA $5,49 \pm 0,6$ (6,42-4,8); AMC $2,47 \pm 0,3$ (2,78-2,04); LMC $2,07 \pm 0,3$ (2,55-1,64); LC $5,74 \pm 0,4$ (6,44-5,16); AC $4,86 \pm 0,4$ (5,47-4,33); DOF $3,22 \pm 0,3$ (3,59-2,82); DNF $1,84 \pm 0,2$ (2,27-1,6); DIO $4,01 \pm 0,7$ (5,03-2,76); DO $1,13 \pm 0,1$ (1,31-0,98); DIN $2,63 \pm 0,2$ (2,99-2,42); DN $0,22 \pm 0,01$ (0,25-0,2); DFE $6,21 \pm 0,7$ (7,48-5,34); LDO $3,27 \pm 0,2$ (3,58-2,99); AND $1,83 \pm 0,3$ (2,29-1,49); ANV $1,33 \pm 0,2$ (1,64-1,02)

Scinax hayii (Barbour 1909)

Descrição do girino (Estágios 31-36; n = 5): Comprimento total máximo 36,09 mm (no estágio 36). **Corpo:** comprimido (AC/LC = 1,14); com comprimento referente à 0,35 vezes o comprimento total; elíptico alongado em vista dorsal; triangular em vista lateral. **Focinho:**

inclinado em vista lateral, arredondado em vista dorsal. **Olhos:** tamanho médio ($DO/LC = 0,20$), localizados e orientados lateralmente ($DIO/LC = 0,89$). **Narinas:** tamanho médio ($DN/LC = 0,054$), posicionadas e direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,53$), circulares, borda marginal levemente elevada, sem projeções no bordo interno, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, direcionado posterodorsalmente, abrindo-se no terço médio do corpo do corpo ($DEF/CC = 0,59$), parede interna do tubo presente, completamente fundida a parede do corpo. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral não visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado posteroventralmente, fundido a nadadeira ventral, posicionado acima da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** alta ($AMCA/CCA = 0,50$); musculatura da cauda delgada ($AMC/AC = 0,43$); nadadeira dorsal menor que a ventral ($AND/ANV = 0,90$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal alta ($AND/CCA = 0,17$), com altura máxima no terço inicial da cauda, margem convexa, originando-se no terço médio do corpo com inclinação abrupta. Nadadeira ventral grande ($ANV/CCA = 0,19$), com a margem externa convexa, originando-se anterior ao tubo ventral. **Disco oral:** tamanho médio ($LDO/LC = 0,51$), posicionado anteroventralmente; emarginado na região inferior; papilas marginais uniseriada, com interrupção na parte superior; papilas submarginais presentes, muito numerosas; a fórmula do disco oral é (LTRF) 2/ 3(1), $A1=A2$, $P1=P2>P3$, bico presente, muito desenvolvido, serrilhado, a estrutura superior tem formato de arco e a inferior de V. **História natural:** hábito nectônico, podendo ser encontrado em remansos de riachos ou poças permanentes em bordas de mata ou áreas abertas, não forma agregações (cardume), meses de ocorrência indeterminado.

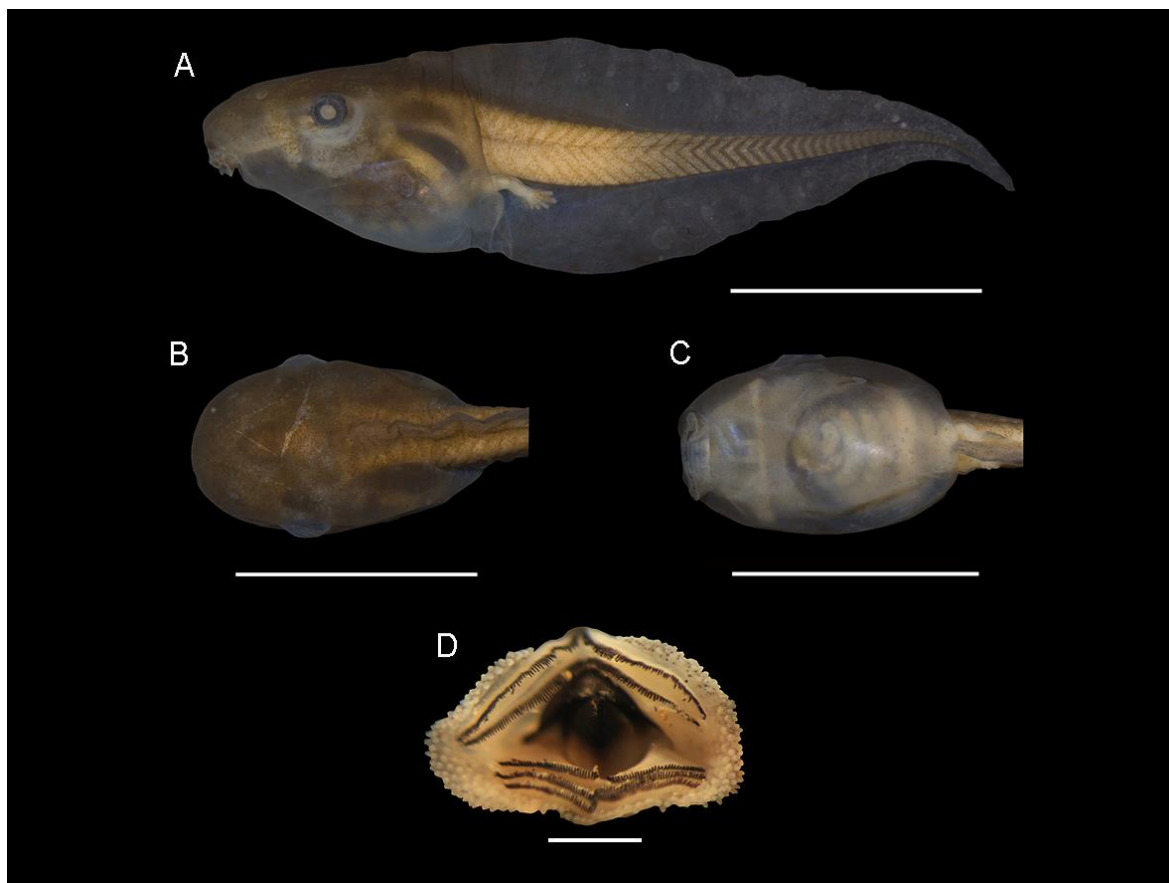


Figura 17. Girino de *Scinax hayii* (UNIRIO 1325) no estágio 36: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (UNIRIO 4254) (escala = 1 mm).

Medidas. CT 30,81±3,6 (36,09-26,02); CC 10,79±0,6 (11,39-9,75); CCA 20,01±3,0 (24,7-16,27); AMCA 10,11±0,5 (10,73-9,43); AMC 3,26±0,2 (3,64-2,9); LMC 2,59±0,2 (2,84-2,14); LC 6,63±0,6 (7,44-6,02); AC 7,57±0,8 (8,51-6,47); DOF 4,36±0,2 (4,58-4,0); DNF 1,92±0,4 (2,4-1,32); DIO 5,93±0,5 (6,62-5,13); DO 1,37±0,1 (1,5-1,16); DIN 3,52±0,2 (3,99-3,28); DN 0,36±0,09 (0,53-0,31); DFE 7,70±0,4 (7,99-7,07); LDO 3,42±0,4 (4,09-2,98); AND 3,52±0,1 (3,84-3,35); ANV 3,88±0,3 (4,55-3,54)

Hylodidae Günther 1858

Crossodactylus aeneus Müller 1924

Descrição do girino (Estágios 33-37; n = 5): Comprimento total máximo 42,83 mm (no estágio 34). **Corpo:** deprimido (AC/LC = 0,85); com comprimento referente à 0,37 vezes o

comprimento total; elíptico em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** arredondado em vista lateral, oval em vista dorsal. **Olhos:** tamanho médio (DO/LC = 0,17), localizados dorsalmente, orientados dorsolateralmente (DIO/LC = 0,48). **Narinas:** tamanho médio (DN/LC = 0,049), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente (DIN/LC = 0,33), elípticas ou rinoformes, borda marginal elevada, pequena projeção no bordo interno, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, direcionado posterdorsalmente, abrindo-se no terço médio do corpo (DEF/CC = 0,56), parede interna do tubo presente, pequena extremidade livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, com acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado posteroventralmente, fundido a nadadeira ventral, posicionado abaixo da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média (AMCA/CCA = 0,28); musculatura da cauda mediana (AMC/AC = 0,54); nadadeira dorsal maior que a ventral (AND/ANV = 1,58); terminação da cauda obtusa. Nadadeira dorsal média (AND/CCA = 0,09), com altura máxima no terço médio da cauda, margem pouco convexa, originando-se no terço final do corpo, com inclinação pequena. Nadadeira ventral baixa (ANV/CCA = 0,05), com a margem externa pouco convexa, originando-se no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno (LDO/LC = 0,34), posicionado ventralmente; emarginado na região lateral e ventral; papilas marginais uniseriada, com grande interrupção na parte superior; papilas submarginais presentes, a fórmula do disco oral é (LTRF) 2/ 3(1), A1<A2, P1<P2>P3, bico presente, muito desenvolvido, serrilhado, a estrutura superior tem formato de arco e a inferior de V. **História natural:** hábito raspador, não forma agregações (cardume), ocorre em todas as estações do ano, em riachos permanentes em ambientes florestais, distribuindo-se entre 412-500m.

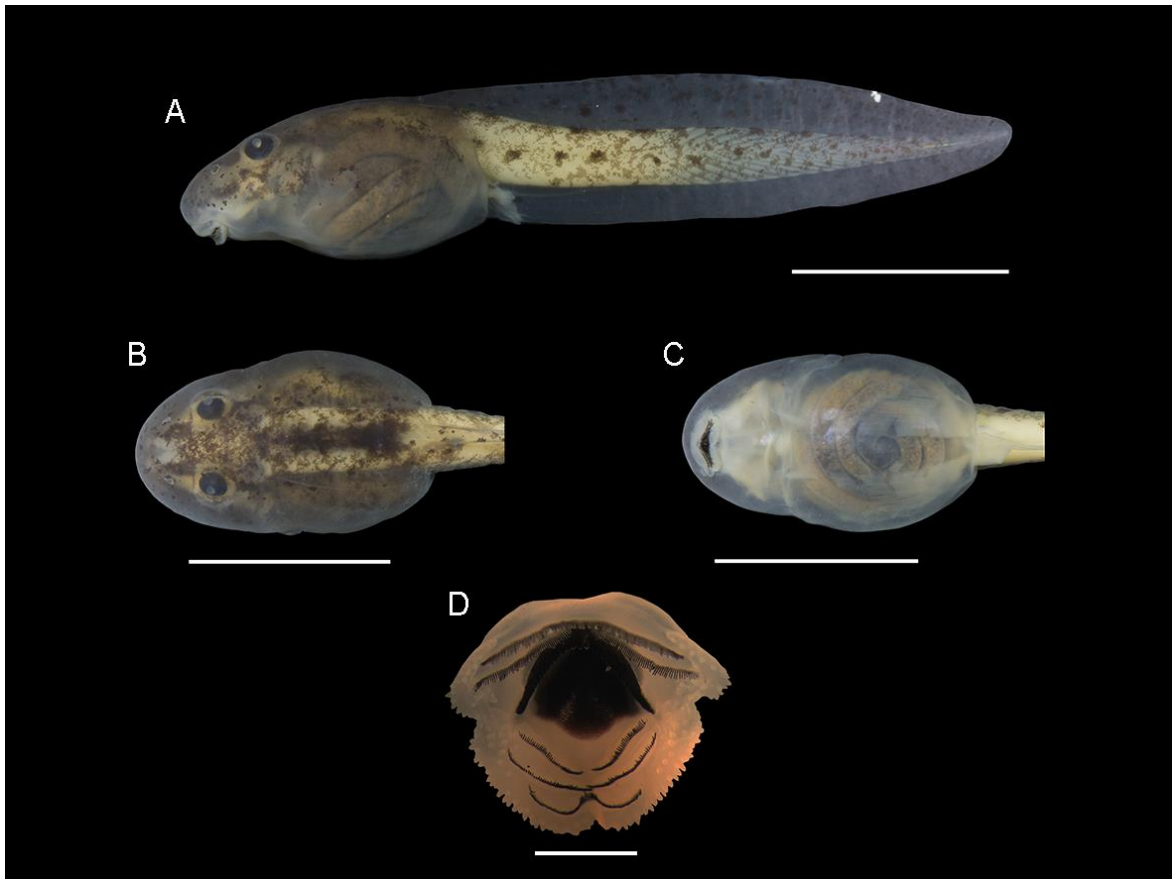


Figura 18. Girino de *Crossodactylus aeneus* (UNIRIO 6356) no estágio 34: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (UNIRIO 6499) (escala = 1 mm).

Medidas. CT $40,52 \pm 2,8$ (36,65-42,83); CC $15,27 \pm 0,2$ (15,56-14,89); CCA $25,24 \pm 2,5$ (27,31-21,76); AMCA $7,25 \pm 0,9$ (8,97-6,59); AMC $4,0 \pm 0,3$ (4,44-3,59); LMC $3,2 \pm 0,4$ (3,62-2,57); LC $8,76 \pm 0,3$ (9,42-8,42); AC $7,47 \pm 0,6$ (8,38-6,86); DOF $4,63 \pm 0,3$ (5,06-4,29); DNF $2,13 \pm 0,3$ (2,44-1,8); DIO $4,23 \pm 0,2$ (4,47-3,99); DO $1,54 \pm 0,3$ (2,03-1,27); DIN $2,9 \pm 0,1$ (3,07-2,77); DN $0,43 \pm 0,1$ (0,61-0,29); DFE $8,60 \pm 0,5$ (9,3-7,86); LDO $2,98 \pm 0,3$ (3,35-2,63); AND $2,34 \pm 0,5$ (3,13-1,89); ANV $1,48 \pm 0,3$ (2,02-1,25).

Hylodes asper (Müller 1924)

Descrição do girino (Estágios 34-36; n = 5): Comprimento total máximo 58,21 mm (no estágio 36). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,80$); com comprimento referente à 0,33 vezes o comprimento total; elíptico em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral.

Focinho: arredondado em vista lateral e dorsal. **Olhos:** tamanho médio ($DO/LC = 0,17$), localizados dorsalmente; orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,45$). **Narinas:** tamanho médio ($DN/LC = 0,05$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,33$), elíptica, borda marginal elevada, com grande projeção no bordo interno que recobre de forma parcial a abertura das narinas em vista dorsal, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateroventralmente, direcionado para parte posterodorsal, abrindo-se no terço médio do corpo ($DEF/CC = 0,59$), parede interna do tubo presente, totalmente livre. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, com acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado circularmente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,32$); musculatura da cauda robusta ($AMC/AC = 0,72$); em vista dorsal, ausência de coloração na parte superior da musculatura, cercada por uma linha de coloração escura, formando um flanco; nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,32$); terminação da cauda variando entre aguda e obtusa. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,08$), com altura máxima no terço inicial da cauda, margem pouco convexa, originando-se no terço posterior do corpo com inclinação moderada. Nadadeira ventral baixa ($ANV/CCA = 0,06$), com a margem externa pouco convexa, originando-se no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno ($LDO/LC = 0,42$), posicionado anteroventralmente; emarginado lateralmente; papilas marginais com grande interrupção na parte superior; com uma fileira de papilas cônicas na região superior e lateral e duas fileiras na parte inferior; papilas submarginais presentes, pouco numerosas, na parte superior; a fórmula do disco oral é (LTRF) 2(2)/3(1), $A1=A2$, $P1=P2=P3$, bico presente, bem desenvolvido, serrilhado, a estrutura superior tem formato de M e a inferior de V. **História natural:** hábito raspador, não forma agregações (cardume), ocorre em todas

as estações do ano, em riachos permanentes em ambientes florestais, distribuindo-se de 412-740m.

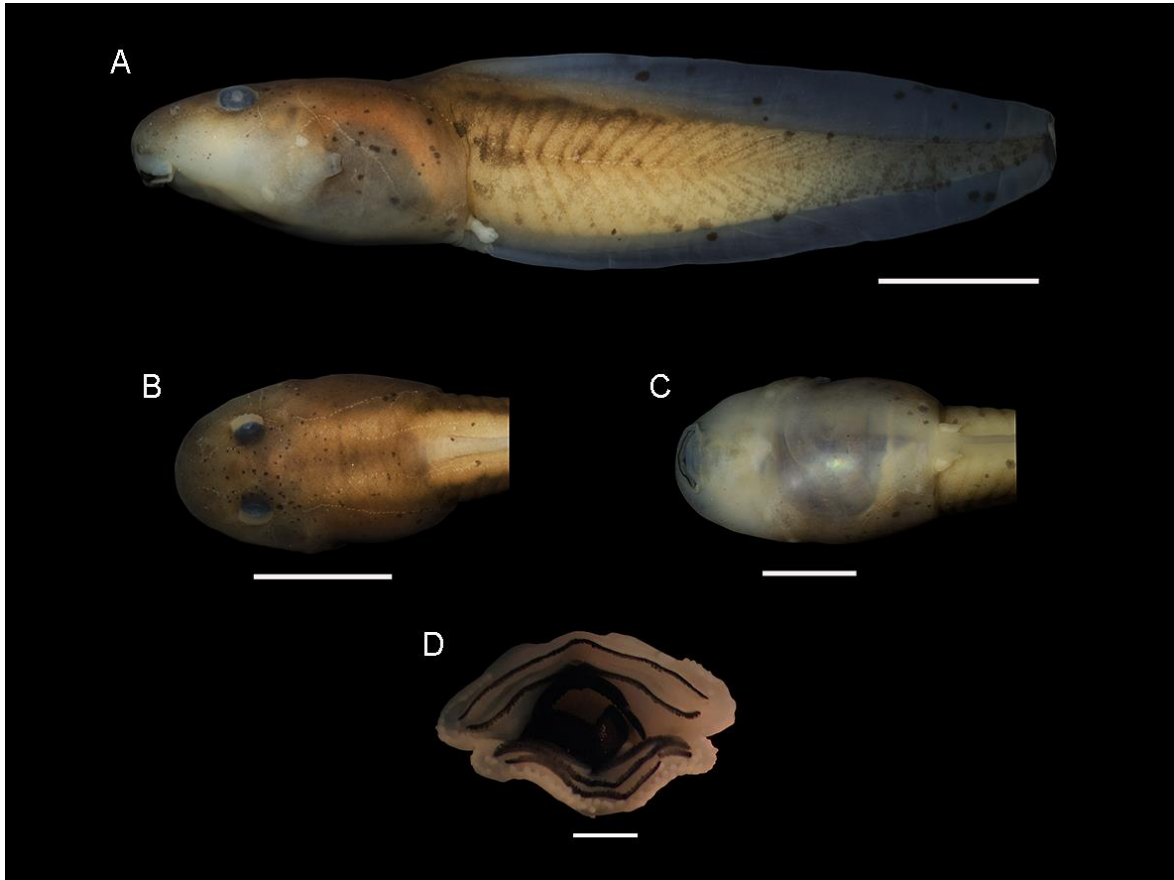


Figura 19. Girino de *Hyloides asper* (UNIRIO 6428) no estágio 34: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT 58,21±3,79 (61,28-51,66); CC 19,58±0,5 (20,13-18,96); CCA 38,63±3,4 (41,55-32,69); AMCA 12,41±0,1 (12,63-12,25); AMC 7,3±0,3 (7,78-6,72); LMC 5,9±0,6 (6,95-5,14); LC 12,55±0,5 (6,95-5,14); AC 10,12±0,6 (10,96-9,42); DOF 6,47±0,3 (6,85-6,17); DNF 2,52±0,2 (2,83-2,19); DIO 5,74±0,2 (6,06-5,42); DO 2,16±0,1 (2,31-1,92); DIN 4,21±0,3 (4,74-3,86); DN 0,66±0,02 (0,7-0,64); DFE 11,68±0,3 (12,15-11,2); LDO 5,38±0,3 (6,05-5,1); AND 3,47±0,2 (3,72-3,2); ANV 2,62±0,4 (2,96-1,86).

Megaelosia goeldii (Baumann 1912)

Descrição do girino (Estágios 35-37; n = 4): Comprimento total máximo 123,48 mm (no estágio 36). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,79$); com comprimento referente à 0,40 vezes o comprimento total; elíptico em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** elíptico em vista dorsal, arredondado em vista lateral. **Olhos:** tamanho pequeno ($DO/LC = 0,12$), localizados dorsalmente; orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,54$). **Narinas:** tamanho grande ($DN/LC = 0,06$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,40$), elíptica, borda marginal elevada, podendo ou não apresentar projeção no bordo interno, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, direcionado para parte posterodorsal, abrindo-se no terço médio do corpo ($DEF/CC = 0,55$), parede interna do tubo presente, inteiramente fundida. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, com acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo de intestino:** pouco visível, recoberto pela musculatura abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado para parte posterior do corpo, fundido à nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,38$); musculatura da cauda robusta ($AMC/AC = 0,74$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,33$); terminação da cauda obtusa. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,13$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem convexa, originando-se na junção entre o corpo e musculatura da cauda, com inclinação abrupta no terço médio da cauda. Nadadeira ventral média ($ANV/CCA = 0,09$), com a margem externa convexa, originando-se no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho médio ($LDO/LC = 0,47$), posicionado ventralmente; emarginado lateralmente; papilas marginais uniseriadas em todo disco, com grande interrupção na parte superior; papilas submarginais presentes, pouco numerosas; localizadas na parte lateral superior; a fórmula do disco oral é (LTRF) 2(2)/3(1), $A1=A2$, $P1=P2>P3$, bico presente, bem desenvolvido, serrilhado, a estrutura superior tem formato de arco e a inferior de V. **História natural:**

hábito raspador, não forma agregações (cardume), ocorre em todas as estações do ano, em riachos permanentes em ambientes florestais, distribuindo-se entre 740-1263m.

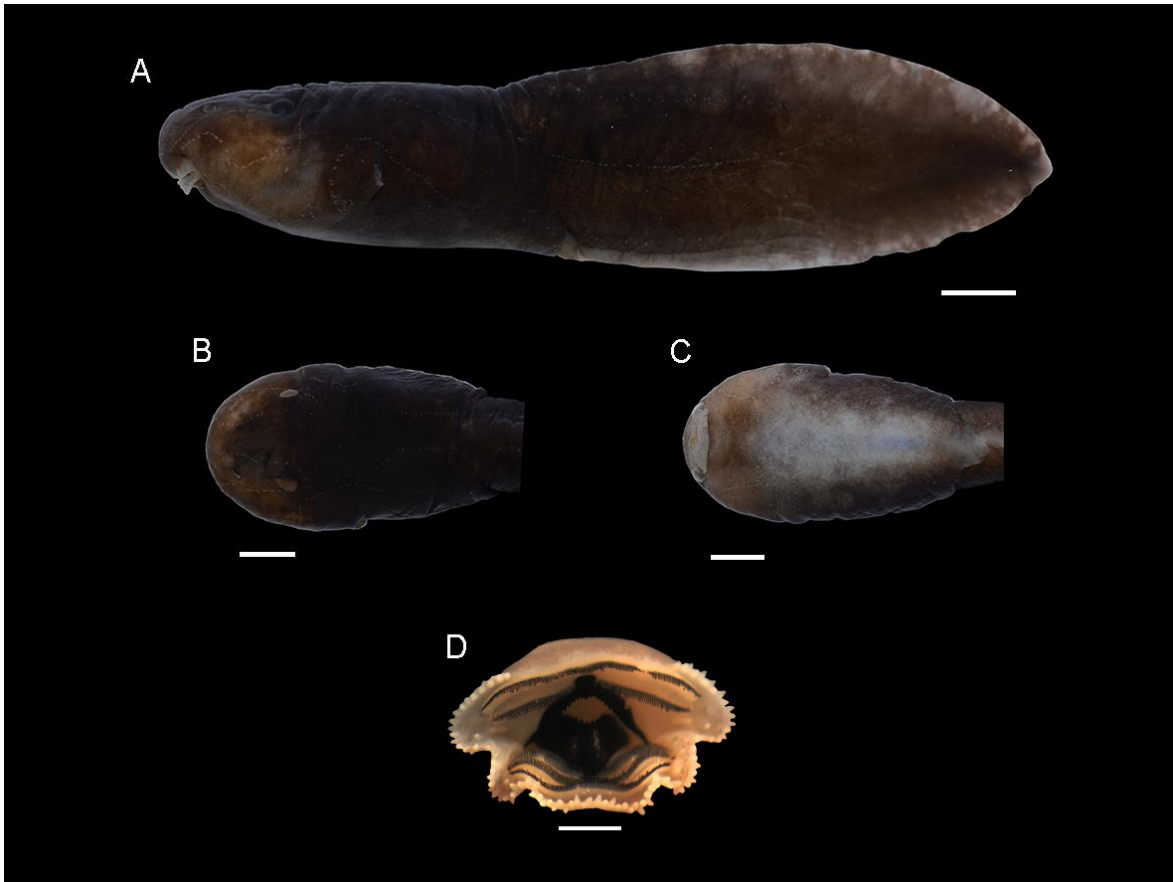


Figura 20. Girino de *Megaelosia goeldii*: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (UNIRIO 6032) (escala = 1 mm).

Medidas. CT 115,06±8,4 (123,48-103-65); CC 46,52±3,7 (50,15-41,67); CCA 68,54±5,5 (73,33-61,98); AMCA 26,55±2,1 (28,18-23,6); AMC 16,27±1,3 (17,55-15,09); LMC 14,26±1,4 (16,4-12,98); LC 27,37±3,8 (33,01-24,47); AC 21,81±3,3 (26,8-19,26); DOF 13,02±1,7 (14,6-11,29); DNF 4,77±0,5 (5,41-4,32); DIO 14,97±1,4 (16,48-13,26); DO 3,33±0,4 (3,72-2,96); DIN 10,99±0,6 (11,65-10,17); DN 1,69±0,1 (1,95-1,56); LDO 25,63±2,3 (27,91-22,35); AND 8,9±0,8 (9,69-7,75); ANV 6,69±0,8 (7,93-6,06)

Odontophrynidae Lynch 1969

Proceratophrys appendiculata (Günther 1873)

Descrição do girino (Estágios 31-36; n = 6): Comprimento total máximo 32,40mm (no estágio 34). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,76$); com comprimento referente à 0,41 vezes o comprimento total; elíptico, raramente ovoide em vista dorsal; arredondado deprimido em vista lateral. **Focinho:** arredondado em vista lateral, oval ou pontudo em vista dorsal. **Olhos:** tamanho pequeno ($DO/LC = 0,12$), localizados dorsalmente, orientados dorsolateralmente ($DIO/LC = 0,37$). **Narinas:** tamanho médio ($DN/LC = 0,045$), posicionadas dorsalmente, direcionadas dorsolateralmente ($DIN/LC = 0,19$), elípticas ou rinoformes, pequena projeção no bordo interno, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado lateralmente, direcionado postedorsalmente, abrindo-se no terço anterior do corpo do corpo ($DEF/CC = 0,43$), parede interna do tubo presente, inteiramente fundida. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** enrolado elípticamente, com ponto de inflexão localizado no centro da região abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado posteriormente, fundido a nadadeira ventral, posicionado no nível da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,32$); musculatura da cauda delgada ($AMC/AC = 0,39$); nadadeira dorsal maior que a ventral ($AND/ANV = 1,38$); terminação da cauda arredondada. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,11$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem convexa, originando-se no terço final do corpo, com inclinação abrupta entre o terço inicial e médio da cauda. Nadadeira ventral média ($ANV/CCA = 0,08$), com a margem externa pouco convexa, originando-se no nível do tubo ventral. **Disco oral:** tamanho pequeno ($LDO/LC = 0,34$), posicionado anteroventralmente; emarginado na região lateral e duas emarginações ventrais; papilas marginais uniseriada, com grande interrupção na parte superior; papilas submarginais ausentes, a fórmula do disco oral é (LTRF) 2/ 3(1), $A1 < A2$, $P1 < P2 < P3$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de arco e a inferior de V. **História natural:**

hábito bentônico, não forma agregações, ocorre na primavera e verão, em remansos de riachos permanentes e temporários em ambientes florestais, distribuindo-se entre 1160-1160-1321m, raramente encontrado a 417m.

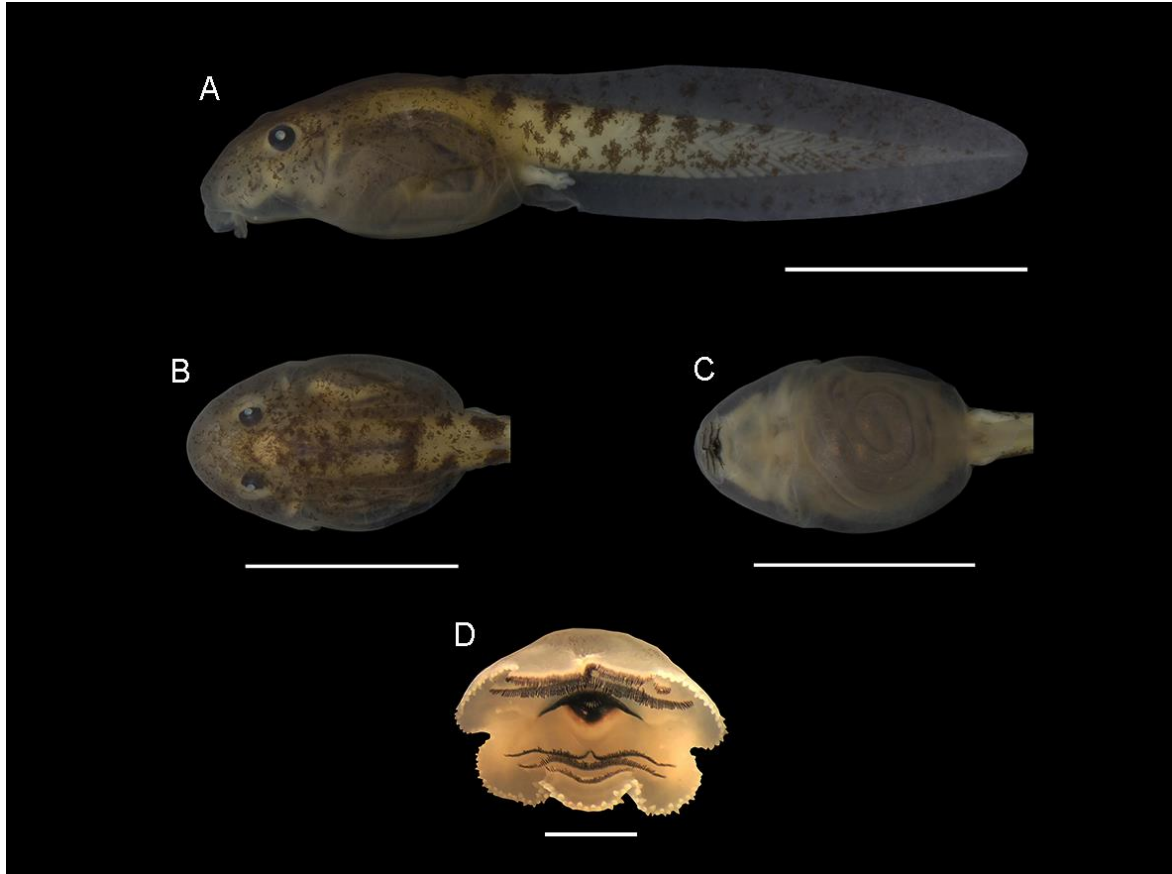


Figura 21. Girino de *Proceratophrys appendiculata* (UNIRIO 6441) no estágio 34: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT 29,89±1,9 (32,4-27,69); CC 12,29±0,4 (12,78-11,61); CCA 17,6±1,9 (20,13-15,01); AMCA 5,66±0,2 (5,99-5,25); AMC 2,37±0,1 (2,5-2,2); LMC 1,85±0,2 (2,18-1,62); LC 7,8±0,7 (8,99-6,79); AC 5,95±0,2 (6,22-5,65); DOF 3,08±0,1 (3,27-2,91); DNF 1,4±0,1 (1,72-1,3); DIO 2,93±0,3 (3,37-2,39); DO 0,97±0,1 (1,12-0,8); DIN 1,51±0,08 (1,6-1,37); DN 0,35±0,02 (0,39-0,31); DFE 5,32±0,4 (6,02-4,91); LDO 2,7±0,3 (3,33-2,4); AND 1,95±0,2 (2,2-1,52); ANV 1,41±0,3 (1,74-0,9)

Phyllomedusidae Günther 1858

Phasmahyla guttata (Lutz 1924)

Descrição do girino (Estágios 31-36; n = 4): Comprimento total máximo 41,24 mm (no estágio 36). **Corpo:** deprimido ($AC/LC = 0,95$); com comprimento referente à 0,32 vezes o comprimento total; elíptico alongado em vista dorsal; triangular deprimido vista lateral. **Focinho** inclinado em vista lateral, arredondado em vista dorsal. **Olhos:** tamanho médio ($DO/LC = 0,21$), localizados e orientados lateralmente ($DIO/LC = 0,99$). **Narinas:** tamanho grande ($DN/LC = 0,059$), posicionadas e direcionadas lateralmente ($DIN/LC = 0,85$), elípticas, sem projeções no bordo interno, mais próximas do focinho do que dos olhos. **Espiráculo:** sinistro, posicionado ventralmente, direcionado para parte posterior, abrindo-se no terço médio do corpo do corpo ($DEF/CC = 0,54$), parede interna do tubo ausente. **Sistema de linha lateral:** poros da linha lateral não visíveis, sem acúmulo de neuromastos no ventre. **Tubo do intestino:** pouco visível, recoberto pela musculatura abdominal. **Tubo ventral:** com posição dextral, direcionado posteroventralmente, extremidade distal livre da nadadeira ventral, posicionado acima da margem inferior da nadadeira ventral. **Cauda:** média ($AMCA/CCA = 0,32$); musculatura da cauda mediana ($AMC/AC = 0,61$); nadadeira dorsal menor que a ventral ($AND/ANV = 0,77$); terminação da cauda aguda. Nadadeira dorsal média ($AND/CCA = 0,078$), com altura máxima no terço médio da cauda, margem convexa, originando-se no terço posterior do corpo com inclinação moderada. Nadadeira ventral média ($ANV/CCA = 0,10$), com a margem externa convexa, originando-se anterior ao tubo ventral. **Disco oral:** tamanho grande ($LDO/LC = 0,71$), posicionado anterodorsalmente; umbeliforme; emarginado na região superior; papilas marginais ausentes; papilas submarginais ausentes; a fórmula do disco oral é (LTRF) $1/2(1)$, $P1=P2$, bico presente, serrilhado, a estrutura superior tem formato de M e a inferior de V. **História natural:** hábito neustônico, forma agregações (cardume), meses de ocorrência

indeterminado, ocorre em riachos permanentes em ambientes florestais, encontrada à 1263m. As populações de *P. guttata* passam por um intenso declínio populacional na região, sendo extremamente difícil obter dados adicionais relevantes sobre seus aspectos comportamentais.

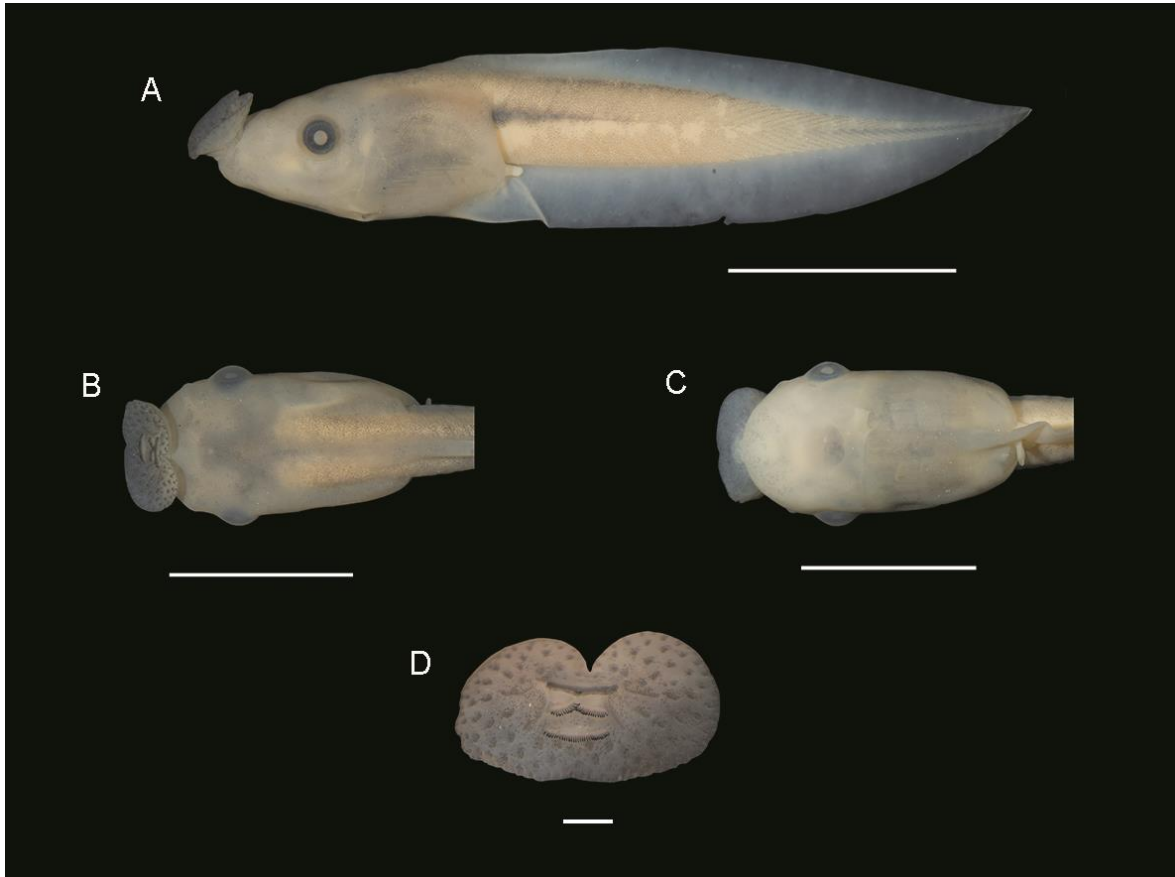


Figura 22. Girino de *Phasmahyla guttata* (UNIRIO 5465) no estágio 31: A) vista lateral; B) dorsal; C) ventral (escala = 10 mm); D) disco oral (escala = 1 mm).

Medidas. CT $38,02 \pm 3,1$ (41,24-33,71); CC $12,29 \pm 0,6$ (12,96-11,34); CCA $25,73 \pm 2,6$ (28,74-22,37); AMCA $8,23 \pm 0,5$ (8,92-7,66); AMC $4,07 \pm 0,4$ (4,5-3,56); LMC $3,02 \pm 0,6$ (3,67-2,4); LC $6,9 \pm 0,4$ (7,38-6,43); AC $6,6 \pm 0,3$ (6,94-6,17); DOF $4,22 \pm 0,6$ (4,97-3,63); DNF $2,01 \pm 0,1$ (2,16-1,8); DIO $6,86 \pm 0,7$ (7,76-5,95); DO $1,51 \pm 0,1$ (1,71-1,33); DIN $5,46 \pm 0,5$ (6,72-5,46); DN $0,4 \pm 0,08$ (0,52-0,31); DFE $6,74 \pm 0,5$ (7,25-6,05); LDO $4,91 \pm 0,7$ (5,67-3,94); AND $2,03 \pm 0,1$ (2,19-1,84); ANV $2,61 \pm 0,3$ (3,09-2,43).

Chave taxonômica para os girinos de 18 espécies do Parque Nacional da Serra dos Órgãos,
Rio de Janeiro, Brasil

- 1** Tubo ventral com posição dextral; ausência de flap abdominal 2
- Tubo ventral com posição posterior, fundido ao flap abdominal; nadadeiras iniciando no terço médio da musculatura caudal *Cycloramphus brasiliensis*
- 2** Abertura do tubo ventral posicionada acima do nível da margem inferior da nadadeira ventral 3
- Abertura do tubo ventral posicionada no nível da margem inferior na nadadeira ventral 4
- 3** Espiráculo posicionado ventralmente; disco oral posicionado anterodorsalmente, com formato umbeliforme; fóruma do disco oral 1/2(1) *Phasmahyla guttata*
- Espiráculo posicionado lateralmente; disco oral posicionado anteroventralmente; bico córneo bem desenvolvido; fórmula do disco oral 2(2)/3(1) *Scinax hayii*
- 4** Girino de tamanho grande, com comprimento total maior que 100 mm *Megaelosia goeldii*
- Girinos com comprimento total abaixo de 70 mm 5
- 5** Olhos posicionados dorsalmente; disco oral com grande interrupção na fileira de papilas marginais na região superior 6
- Olhos posicionados dorsalmente; disco oral com pequena interrupção na fileira de papilas marginais na região superior 10
- 6** Disco oral não emarginado; nadadeira dorsal paralela ao eixo longitudinal do corpo; olhos recobertos por membrana dérmica delgada *Vitreorana uranoscopa*

- Disco oral emarginado; nadadeira dorsal com margem convexa; olhos não recobertos por membrana dérmica 7
- 7** Disco oral emarginado apenas na região lateral; ausência de coloração na parte superior da musculatura caudal, cercada por uma linha de coloração escura, formando um flanco *Hylodes asper*
- Disco oral emarginado na região lateral e inferior; ausência de flanco na musculatura caudal 8
- 8** Fórmula oral 2/3(1); tubo do intestino enrolado elipticamente com ponto de inflexão localizado na região central do abdômen *Proceratophrys appendiculata*
- Tubo do intestino enrolado circularmente com ponto de inflexão localizado na região central do abdômen 9
- 9** Girino homoganeamente escuro; pequena faixa branca na região inferior da musculatura caudal; presença de papilas submarginais; bico córneo pouco desenvolvido; fórmula oral 2(2)/3 *Rhinella icterica*
- Girino com coloração marmoreada; ausência de faixa branca na região inferior da musculatura caudal; ausência de papilas submarginais; bico córneo muito desenvolvido; fórmula oral 2(2)/3(1) *Crossodactylus aeneus*
- 10** Ausência de papilas submarginais; margem da nadadeira dorsal pouco convexa ou paralela ao eixo longitudinal do corpo 11
- Presença de papilas submarginais; margem da nadadeira dorsal convexa 12
- 11** Nadadeira dorsal iniciando-se no terço posterior do corpo; fórmula do disco oral comumente 2(2)/3(1) *Bokermannohyla circumdata*

- Nadadeira dorsal iniciando-se no terço inicial da musculatura caudal; fórmula oral 2(2)/4(1)
..... *Aplastodiscus eugenioi*
- 12** Girino de coloração marmoreada; fileira de papilas marginais uniseriada na parte superior e lateral do disco oral e dupla na parte inferior *Aplastodiscus leucopygius*
- Girino de coloração escura; fileira de papilas marginais uniseriada na parte superior do disco oral e dupla na parte lateral e inferior *Aplastodiscus arildae*
- 13** Olhos posicionadas dorsolateralmente; narinas riniformes; disco oral com presença de emarginações; ausência de papilas submarginais; fórmula do disco oral 2(2)/4(1)
..... *Bokermannohyla carvalhoi*
- Olhos posicionados dorsolateralmente; narinas circulares; disco oral com ausência de emarginações; presença de papilas submarginais; fórmula do disco oral 2(2)/3
..... 14
- 14** Disco oral com pequena interrupção na fileira de papilas marginais na região superior
..... *Ololygon obtriangulata*
- Disco oral sem interrupção na fileira de papilas marginais 15
- 15** Disco oral com uma fileira de papilas na região superior e três fileiras na parte inferior
..... *Ololygon albicans*
- Disco oral com três fileiras de papilas na região superior e inferior
..... 16
- 16** Nadadeira dorsal alta, originando-se no terço médio do corpo
..... *Ololygon flavoguttata*
- Nadadeira dorsal média, originando-se no terço posterior do corpo
..... *Ololygon sp.*

Discussão

O Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) está inserido no bioma Mata Atlântica e contém alguns dos picos mais altos da Serra dos Órgãos (ICMBIO 2008). Áreas montanhosas são conhecidas pelo importante papel na manutenção e criação de biodiversidade local e global (Burke 2003), além disso topos montanhosos são reconhecidos mundialmente como centros de biodiversidade e endemismo (Smith & Cleef 1988, Barthlott et al. 1993, Alves & Kolbek 1994)

Das 21 espécies de anuros que apresentam sítios de oviposição em riachos na região de estudo, 12 possuem sua localidade tipo descrita no interior ou arredores do PARNASO, sendo essas : *A. arildae*; *A. leucopygius*; *A. fluminius*; *A. musicus*; *B. carvalhoi*; *O. albicans*; *S. hayii*; *C. aeneus*; *H. asper*; *H. pipilans*; *M. goeldii*; *P. appendiculata*. Além disso, *A. fluminius* e *A. musicus* são endêmicas da serra dos órgãos e passam por um intenso declínio populacional (A.M.P.T Carvalho-e-Silva, observação pessoal).

Das 15 guildas ecomorfológicas revisadas por McDiarmid & Altig (1999b), identificamos girinos com hábito bentônico, clasping, fossorial, nectônico, neustônico e semi-terrestre. Essa evidência sugere que o PARNASO é de suma importância não só na preservação da diversidade taxonômica, como também na manutenção da diversidade funcional.

Encontramos uma forte correlação entre a morfologia e a posição ocupada pela larva na coluna d'água, corroborando com outros estudos desenvolvidos no mesmo âmbito (Altig & Johnston 1989, Altig & McDiarmid 1999; Wells 2007). Os girinos bentônicos costumam ter um corpo achatado, nadadeiras dorsais e ventrais baixas e olhos dorsais, enquanto os girinos nectônicos exibem um corpo mais triangular, nadadeiras dorsais e ventrais altas e olhos laterais, girinos neustônicos geralmente têm corpo deprimido, olhos laterais, cauda alongada, nadadeira dorsal e ventral baixa e um disco oral revolvido ou umbelliforme (Altig e McDiarmid, 1999; Wells, 2007). Girinos fossoriais têm olhos pequenos, corpos alongados, musculatura larga da cauda e nadadeiras dorsal e ventral baixas (Altig e McDiarmid, 1999).

As larvas pertencentes a essa guilda ecomorfológica também exibem intenso fluxo sanguíneo da pele para aumentar as taxas de troca de gases (Wells, 2007), porque sua respiração por brânquias pode ser comprometida pelo estilo de vida fossorial.

Foi possível observar uma variação morfológica em relação as larvas do gênero *Ololygon* em comparação aos outros integrantes da guilda bentônica. Essas espécies demonstraram caracteres morfológicos correlacionados com girinos nectônicos, que ocupam a coluna d'água. Em nossas observações de campo, os girinos de *Ololygon* encontravam-se majoritariamente forrageando próximo ao substrato. Porém, foi possível notar que quando esses indivíduos eram perturbados, em sua fuga, deslocavam-se com maior facilidade e por maior período pela coluna d'água em comparação aos outros indivíduos bentônicos.

Evidências recentes indicam que as populações de anfíbios estão sofrendo declínios em escala global (Stuart et al. 2004, Wake & Vredenburg 2008). A relativa facilidade para a amostragem dos girinos faz com que este estágio de vida seja ideal para se obter informações rápidas para a caracterização do estado de conservação de uma biota local (Anstis 2002). Além disso, a utilização do estágio larval também tem sido apontada como um complemento essencial à amostragem de adultos, para se detectar o número real de espécies de um determinado sítio (Silva 2010). Portanto, podemos inferir que o presente estudo é de suma importância para facilitar a identificação da diversidade de girinos na localidade e pode ser usado como base para auxiliar estudos futuros que envolvam ecologia e conservação da anurofauna do PARNASO.

Referências bibliográficas

- Alcalde, L., Vera Candiotti, F., Kolenc, F., Borteiro, C., Baldo, D. (2011): Cranial anatomy of tadpoles of five species of *Scinax* (Hylidae, Hylinae). *Zootaxa* 2787: 19-36.
- Alford, R.A. (1999): Ecology: resource use, competition and predation. pp. 240-278. In: McDiarmid, R.W., Altig, R. (eds.), *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. University of Chicago Press, Chicago.
- Altig, R., Johnston, G.F. (1989): Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. *Herpetological monographs* 81-109.
- Altig, R., McDiarmid, R.W. (1999): Body plan: development and morphology. Pp. 24-51. In: McDiarmid, R.W., Altig, R. (eds.), *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. University of Chicago Press, Chicago.
- Altig, R., McDiarmid, R.W. (1999): Diversity: Familial and generic characterizations. pp. 295-337. In: McDiarmid, R.W., Altig, R. (eds.), *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. University of Chicago Press, Chicago.
- Andrade, G.V., Eterovick, P.C., Rossa-Feres, D.C., Schiesari, L. (2007): Estudos sobre girinos no brasil: histórico, conhecimento atual e perspectivas. pp. 127-145. In: Nascimento, L.B., Oliveira, M.E. (eds), *Herpetologia no Brasil II*. Sociedade Brasileira de Herpetologia, Belo Horizonte.
- Anstis, M. (2002): *Tadpoles of South-Eastern Australia: a guide with keys*. Reed New Holland, Sydney.
- Barthlott, W., Gröger, A., Porembski, S. (1993): Some remarks on the vegetation of tropical inselbergs: diversity and ecological differentiation. *Compte rendu des Séances de la Société de Biogéographie* 69(3): 105-124.

- Burke, A. (2003): Inselbergs in a changing world—global trends. *Diversity and Distributions* 9(5): 375-383.
- Catenazzi, A., Von May, R., Vredenburg, V.T. (2013): High prevalence of infection in tadpoles increases vulnerability to fungal pathogen in high-Andean amphibians. *Biological Conservation* 159: 413-421.
- Carvalho-e-Silva, S.P., Carvalho-e-Silva, A.M.P.T. (1994): Descrição das larvas de *Ololygon albicans* e de *Ololygon trapicheiroi* com considerações sobre sua biologia (Amphibia, Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia* 54(1): 55-62.
- Cronemberger, C., Viveiros-de-Castro, E.B. (2007): *Ciência e conservação na Serra dos Órgãos*. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Brasília.
- Dubeux, M.J.M., Nascimento, F.A.C.D., Lima, L.R., Magalhães, F.D.M., Silva, I.R.S.D., Gonçalves, U., Almeida, J.P.F., Correia, L.L., Garda, A.A., Mesquita, D.O., Rossa-Feres, D.C., Mott, T. (2020): Morphological characterization and taxonomic key of tadpoles (Amphibia: Anura) from the northern region of the Atlantic Forest. *Biota Neotropica* 20(2).
- Dias, P.H., Araujo-Vieira, K., Santos, R.F., Both, C. (2019): Review of the Internal Larval Anatomy of the *Proceratophrys bigibbosa* Species Group (Anura: Odontophrynidae), with Description of the Tadpole of *P. brauni* Kwet and Faivovich, 2001. *Copeia* 107(3): 417-429.
- Fabrezi, M. (2011): Heterochrony in growth and development in anurans from the Chaco of South America. *Evolutionary Biology* 38(4): 390-411.
- Fatorelli, P., Nogueira-Costa, P., ROCHA, D., Frederico, C. (2018): Characterization of tadpoles of the southward portion (oceanic face) of Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brazil, with a proposal for identification key. *North-Western Journal of Zoology*, 14: 171-184.

- Folly, M., Mello Bezerra, A., Ruggeri, J., Hepp, F., Carvalho-e-Silva, A.M.P.T., Gomes, M.R., Carvalho-e-Silva, S.P. (2016): Anuran fauna of the high-elevation areas of the Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO), southeastern Brazil. *Oecologia Australis*, 20(2): 109-120.
- Gosner, K L. (1960): A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16(3): 183-190.
- Grosjean, S. (2005): The choice of external morphological characters and developmental stages for tadpole-based anuran taxonomy: a case study in *Rana (Sylvirana) nigrovittata* (Blyth, 1855) (Amphibia, Anura, Ranidae). *Contributions to Zoology* 74: 61-76.
- Haas, A. (2003): Phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters (Amphibia: Anura)★. *Cladistics* 19(1): 23-89.
- Hall, J.A., Larsen Jr, J.H. (1998): Postembryonic ontogeny of the spadefoot toad, *Scaphiopus intermontanus* (Anura: Pelobatidae): skeletal morphology. *Journal of Morphology* 238(2): 179-244.
- Hall, J.A., Larsen Jr, J.H., Fitzner, R. E. (1997): Postembryonic ontogeny of the spadefoot toad, *Scaphiopus intermontanus* (Anura: Pelobatidae): external morphology. *Herpetological Monographs* 124-178.
- Hammer, O., Harper, D.A., Ryan, P D. (2001): PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica* 4(1): 9.
- Hasui, Y. (1975): Evolução polifásica do precambriano a oeste de São Paulo. *Boletim IG* 6: 95-108.
- Hero, J.M. (1990): An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brasil. *Amazoniana: Limnologia et Oecologia Regionalis Systematis Fluminis Amazonas* 11(2): 201-262.

- Hoff, K.S., Blaustein, A.R., McDiarmid, R.W., Altig, R. (1999): Behaviour: interactions and their consequences. pp. 215-239. In: McDiarmid, R.W., Altig, R. (Eds.), Tadpoles. The Biology of Anuran Larvae. University of Chicago Press, Chicago.
- ICMBIO (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade). Plano de manejo do Parque Nacional da Serra dos Órgãos. p. 665, 2008.
- Inger, R.F. (1986): Diets of tadpoles living in a Bornean rain forest. *Alytes*, 5(4): 153-164.
- Lips, K.R., Savage, J.M. (1996): Key to the known tadpoles (Amphibia: Anura) of Costa Rica. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 31(1): 17-26.
- Lavilla, E.O., Scrocchi, G.J. (1986): Morfometría larval de los géneros de Telmatobiinae (Anura: Leptodactylidae) de Argentina y Chile. *Physis* 44(106): 39-43.
- Machado, I.F., Maltchik, L. (2007): Check-list da diversidade de anuros no Rio Grande do Sul (Brasil) e proposta de classificação para as formas larvais. *Neotropical Biology and Conservation* 2(2): 101-116.
- McDiarmid, R.W., Altig, R. (1999a): Introduction: The tadpole arena. pp. 1–6. In: McDiarmid, R.W., Altig, R. (Eds.), Tadpoles. The Biology of Anuran Larvae. University of Chicago Press, Chicago.
- McDiarmid, R.W., Altig, R. (1999b): Research: Materials and Techniques. pp. 7– 23. In: McDiarmid, R.W., Altig, R. (Eds.), Tadpoles. The Biology of Anuran Larvae. University of Chicago Press, Chicago.
- Provete, D.B., Garey, M.V., Silva, F., Jordani, M.X. (2012): Knowledge gaps and bibliographical revision about descriptions of free-swimming anuran larvae from Brazil. *North-Western Journal of Zoology* 8(2): 283-286.
- Pezzuti, T. L. (2011). Girinos do Quadrilátero Ferrífero, Sudeste do Brasil: Ecomorfologia e Chave de Identificação interativa. Dissertação (Mestrado em Ecologia). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 201 p.

- R Development Core Team (2019): R: A language and environment for statistical computing [Internet]. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. [www. r-project. org](http://www.r-project.org)
- Rossa-Feres, D.D.C., Nomura, F. (2006): Characterization and taxonomic key for tadpoles (Amphibia: Anura) from the northwestern region of São Paulo State, Brazil. *Biota Neotropica* 6(1).
- Ruggeri, J., Toledo, L.F., Carvalho-e-Silva, S.P. (2018): Stream tadpoles present high prevalence but low infection loads of *Batrachochytrium dendrobatidis* (Chytridiomycota). *Hydrobiologia* 806(1): 303-311.
- Silva, F.R. (2010): Evaluation of survey methods for sampling anuran species richness in the Neotropics. *South American Journal of Herpetology* 5(3): 212-221.
- Silva, D.N., Rosa, F.C.B., Carvalho-e-Silva, A.M.T. (2018): Ontogeny and behavioural aspects of the tadpoles of *Megaelasia goeldii* (Baumann, 1912) (Amphibia, Anura, Hylodidae). *Herpetology Notes* 11: 629-639.
- Sheil, C.A., Alamillo, H. (2005): Osteology and skeletal development of *Phyllomedusa vaillanti* (Anura: Hylidae: Phyllomedusinae) and a comparison of this arboreal species with a terrestrial member of the genus. *Journal of Morphology* 265(3): 343-368.
- Smith, J.M.B., Cleef, A.M. (1988): Composition and origins of the world's tropicalpine floras. *Journal of Biogeography* 631-645.
- Stuart, S.N., Chanson, J.S., Cox, N.A., Young, B.E., Rodrigues, A.S., Fischman, D.L., Waller, R.W. (2004): Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306(5702): 1783-1786.
- Ultsch, G.R., Bradford, D., Freda, J. (1999): Physiology: coping with the environment. pp. 189-214. In: McDiarmid, R.W., Altig, R. (Eds.), *Tadpoles. The Biology of Anuran Larvae*. University of Chicago Press, Chicago.

- Vera Candiotti, M.F., Nuñez, J.J., Úbeda, C. (2011): Development of the nidicolous tadpoles of *Eupsophus emiliopugini* (Anura: Cycloramphidae) until metamorphosis, with comments on systematic relationships of the species and its endotrophic developmental mode. *Acta Zoologica* 92(1): 27-45.
- Vieira, C.A., Toledo, L.F., Longcore, J.E., Longcore, J.R. (2013): Body length of *Hylodes cf. ornatus* and *Lithobates catesbeianus* tadpoles, depigmentation of mouthparts, and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* are related. *Brazilian Journal of Biology* 73(1): 195-199.
- Wake, D.B., Vredenburg, V.T. (2008): Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 11466-11473.
- Wells, K.D. (2007): *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago.

CAPÍTULO II

Manuscrito a ser submetido à revista Diseases of Aquatic Organisms

**Efeito dos fatores intrínsecos e extrínsecos sobre a prevalência do fungo
Batrachochytrium dendrobatidis (Chytridiomycota) em girinos de riacho do domínio
da Mata Atlântica**

**Dener das Neves da Silva^{1,3,*}; Vitor Nelson Texeira Borges-Junior²; Christina Wyss
Castelo Branco³; Ana Maria Paulino Telles de Carvalho-e-Silva¹**

**¹Laboratório de Biossistemática de Anfíbios, Departamento de Zoologia, Instituto de
Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Estado
do Rio de Janeiro, 22290-240, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.**

**²Laboratório de Vertebrados, Departamento de Ecologia, Instituto de Biologia,
Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.**

**³Núcleo de Estudos Limnológicos, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia,
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Estado do Rio de
Janeiro, 22290-240, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.**

RESUMO: Evidências recentes indicam que doenças são uma das causas do declínio mundial dos anfíbios. A quitridiomicose é uma doença emergente causada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). Esse patógeno possui zoósporos flagelados, o que pode facilitar a infecção em girinos. Diferente dos adultos, a infecção na fase larvar raramente é letal. Isto leva a prevalências altas em girinos, fazendo com que atuem como reservatórios para este patógeno. Neste estudo, investigamos a prevalência do fungo, sua variação sazonal, sua relação com a duração do período de desenvolvimento dos girinos e com características físico-químicas da água em 12 riachos ao longo de um gradiente altitudinal no Parque Nacional da Serra dos Órgãos. Para a detecção do *Bd*, o aparato bucal dos girinos foi inspecionado. Espécimes que exibiram desqueratinização compatível com os padrões descritos na literatura foram classificados como *Bd*-positivo. Inspecionamos 545 girinos dos quais 209 (38,3%) foram *Bd*-positivo. A prevalência do fungo não diferiu de forma significativa entre as estações. Espécies com período de desenvolvimento longo apresentaram prevalência mais elevada. Riachos com temperaturas mais baixas e fluxo d'água mais reduzido apresentaram girinos com maior prevalência do patógeno, tanto em espécies de desenvolvimento longo como curto. Os resultados indicam que girinos de desenvolvimento longo apresentam um potencial maior para atuarem como reservatórios do *Bd*. Riachos com temperatura mais amenas e águas com fluxo relativamente mais lento constituem ambientes mais propícios à proliferação do patógeno.

PALAVRAS CHAVE: quitridiomicose; reservatório; temperatura; fluxo d'água; gradiente altitudinal

ABSTRACT: Recent evidences indicate that diseases are one of the causes of amphibian decline worldwide. The chytridiomycosis is an emergent disease caused by the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). This pathogen has flagellated zoospores, that may facilitate the infection in tadpoles. Unlike the adults, the infection in the larval phase is rarely lethal. This leads to a high prevalence in tadpoles with long development periods, causing them to be reservoir to this pathogen. In this study, we investigated the prevalence of the fungus, its seasonal variation, its ratio with the tadpoles' development period and with water's physicochemical properties in 12 streams along an altitudinal gradient in the Parque Nacional da Serra dos Órgãos. For *Bd* detection, the tadpoles mouthparts were individually inspected. Specimens that presented depigmentation compatible with the described patterns in literature were classified as *Bd*-positive. We evaluated 545 tadpoles, of which 209 (38.3 %) were *Bd*-positive. The prevalence did not differ among the seasons. Species with long development periods had higher prevalence. Streams with lower temperatures and slower water flow presented higher prevalence of the pathogen in the tadpoles. Our results indicate that tadpoles with long development periods have a surpassing potential to act as reservoir of *Bd*. Streams with lower temperature rates and slower water flow are more propitious environment to the pathogen.

KEY WORDS: chytridiomycosis; reservoir; temperature; water flow; altitudinal gradient

INTRODUÇÃO

As populações de anfíbios estão sofrendo eventos de declínios em escala global (Stuart et al. 2004; Wake & Vredenburg 2008). Embora muitos fatores contribuam para o desaparecimento de diversas espécies de anfíbios, a quitridiomicose vem sendo apontada como uma das principais causas de declínios e extinções em massa em todo planeta (Skerratt et al. 2007; Fisher et al. 2009; Scheele et al. 2019).

A quitridiomicose é uma doença infecciosa emergente, tendo como um dos seus agentes etiológicos o patógeno fúngico *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore et al. 1999), doravante *Bd*. O *Bd* pode infectar todas as ordens de anfíbios (Gower et al. 2013, Berger et al. 2016) e foi detectado em todos os continentes onde os anfíbios são encontrados (Fisher et al. 2009). No domínio da Mata Atlântica, declínios e extinções foram registradas após o final da década de 1970 (Heyer et al. 1988; Weygoldt 1989; Eterovick et al. 2005). Inicialmente, esses desaparecimentos eram dados como enigmáticos e ocorreram antes da descoberta da quitridiomicose (Eterovick et al. 2005). Entretanto, estudos recentes revelaram uma íntima associação entre o declínio enigmático de anfíbios na Mata Atlântica e o aumento da prevalência do *Bd* em girinos nesse bioma (Carvalho et al. 2017). Isto se deve possivelmente por causa da fácil transmissão do *Bd* no ambiente aquático. Esta ocorre por meio de zoósporos flagelados que encistam nos hospedeiros, dando origem a um zoosporângio, a partir do qual novos zoósporos são subsequentemente liberados na água (Longcore et al. 1999).

Os efeitos negativos da infecção por *Bd* são mais pronunciados nos estágios pós-metamórficos, geralmente levando à morte (Gervasi et al. 2013; Gervasi et al. 2017). Nas larvas, a infecção por *Bd* pode causar mortalidade no hospedeiro em algumas espécies (Blaustein et al. 2005; Garner et al. 2009). No entanto, a infecção está localizada nas peças

buciais queratinizadas (Marantelli et al. 2004; McMahon & Rohr 2015), geralmente resultando em efeitos subletais (Gervasi et al. 2013; Han et al. 2008; Buck et al. 2012). Portanto, enquanto adultos e espécimes pós-metamórficos são altamente sensíveis ao *Bd* (Kilpatrick et al. 2010), os girinos podem atuar como reservatórios para o fungo (Woolhouse et al. 2001; Catenazzi et al. 2013; Valencia-Aguilar et al. 2016). Os hospedeiros reservatórios abrigam infecções não letais e servem como vetores que transmitem o agente infeccioso a outros hospedeiros que são mais sensíveis (Haydon et al. 2002). Com isso, os girinos podem estar auxiliando a persistência do patógeno no ambiente (ver Haydon et al. 2002).

Nos trópicos, os girinos podem ser encontrados habitando um amplo espectro de microhábitats, como riachos, rios, poças temporárias e permanentes (Hoff et al. 1999). Em todos esses ambientes tanto os fatores intrínsecos (ex. duração do período de desenvolvimento) como extrínsecos (ex. fatores bióticos e abióticos) desempenham papéis importantes no desenvolvimento das larvas (Borges-Júnior & Rocha 2013). Girinos de riachos têm um período de desenvolvimento mais longo do que os girinos de poças temporárias e efêmeras (Wells 2007). Esse aspecto comportamental apresenta pontos positivos e negativos. Longos períodos no ambiente aquático permitem que os girinos cresçam e atinjam tamanhos maiores ao final da metamorfose, o que interfere positivamente em sua sobrevivência (Ultsch et al. 1999, Wells 2007). Em contrapartida, um maior tempo de permanência na água também aumenta o tempo de exposição a patógenos aquáticos (Catenazzi et al. 2013; Silva et al. 2018). Como resultado, girinos que se desenvolvem em corpos d'água permanente apresentam maior prevalência de *Bd* quando comparados com larvas de corpos d'água temporários (Ruggeri et al. 2018a).

Entre os diversos fatores ambientais que regulam as populações de fungos aquáticos sapróbios, a temperatura tem impactos profundos na dinâmica populacional e explica por que muitos quitridiomictos se proliferam com mudanças sazonais de temperatura

(Sparrow et al. 1968). Como é o caso de muitos fungos, a temperatura é muito importante para a história de vida do *Bd*. Em cultura, o crescimento ótimo geralmente ocorre entre 17° e 25°C, e a morte em valores entre 27° e 29°C ou em temperaturas abaixo de 0°C (Piotrowski et al. 2004; Woodhams et al. 2008; Voyles et al. 2017). Estudos de campo sugerem que variações sazonais e latitudinais de temperatura (Kriger & Hero 2006, Kriger et al. 2007; Sapsford et al. 2013), bem como seleção de microhabitat em relação à temperatura por hospedeiros anfíbios pode afetar a dinâmica e o resultado das infecções por *Bd* na natureza (Richards–Zawacki 2010; Rowley & Alford 2013). A temperatura da água é tipicamente identificada como um sendo um importante o condutor da dinâmica da infecção por *Bd* (Woodhams & Alford 2005; Ruggeri et al. 2015; Fernández-Beaskoetxea et al. 2015). Estudos realizados em diferentes regiões do globo demonstram que a prevalência do fungo tende a aumentar durante os períodos mais frios e secos (Raffel et al. 2015; Brannelly et al. 2018; Sonn et al. 2019). Contudo, fatores ambientais como a cobertura do dossel, a disponibilidade dos corpos hídricos, a pluviosidade, a profundidade, o pH e o fluxo d'água também podem influenciar a dinâmica de infecção do *Bd* em anuros (Conradie et al. 2011; Catenazzi et al. 2013; Ruggeri et al. 2015; Valencia–Aguilar et al. 2016; Ruggeri et al. 2018b).

Neste estudo, nosso objetivo foi compreender os efeitos de fatores intrínsecos e extrínsecos sobre a prevalência do *Bd* em girinos de riachos do domínio da Mata Atlântica, no sudeste do Brasil. Mais especificamente, nós medimos a prevalência de *Bd* em girinos de 12 riachos e buscamos compreender os efeitos da duração do período de desenvolvimento (fator intrínseco) e de características físico-químicas da água (fatores extrínsecos) sobre a prevalência do fungo a partir de uma abordagem de inferência a partir de múltiplas hipóteses. Também investigamos o efeito da sazonalidade sobre a prevalência do *Bd*. Nós esperamos que espécies cujo período de desenvolvimento é longo, apresentem

prevalência mais elevada do fungo do que espécies com período de desenvolvimento curto. Podemos esperar esse resultado uma vez que já foi demonstrado que girinos encontrados em ambientes permanentes apresentam prevalência mais elevada de *Bd* do que girinos de ambientes temporários (Ruggeri et al. 2018a). Também esperamos que os fatores extrínsecos interfiram sobre a prevalência do fungo, especialmente a temperatura da água devido ao seu reconhecido papel na regulação da infecção por *Bd* (Woodhams & Alford 2005; Ruggeri et al. 2015). Finalmente, esperamos que a prevalência dos fungos nos girinos seja mais elevada durante os períodos mais frios e secos da amostragem uma vez que a prevalência do fungo tende a aumentar mediante a esses aspectos (Raffel et al. 2015; Brannelly et al. 2018; Sonn et al. 2019).

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

A Serra dos Órgãos corresponde a um segmento da Serra do Mar que constitui uma das mais destacadas feições orográficas da borda sul-sudeste do continente sul-americano (Hasui et al. 1975). Essa região foi identificada pelo Ministério do Meio Ambiente como uma área de extrema importância biológica (Cronenberg & Viveiros-de-Castro 2007).

O Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) é um parque nacional localizado nas montanhas da Serra dos Órgãos, na parte central do complexo da Serra do Mar, no estado do Rio de Janeiro. Esta área de conservação engloba parte dos municípios de Teresópolis, Petrópolis, Magé e Guapimirim, totalizando uma área de 20.024 ha de floresta ombrófila e floresta das terras altas (Figura 1). A temperatura média anual na região é de 19°C e a precipitação varia entre 1.500 mm e 3.000 mm por ano (ICMBIO 2008).

O PARNASO possui uma alta diversidade de habitats, o que, por sua vez, promove uma alta diversidade de espécies animais (ICMBIO 2008). Ele abriga uma grande parte da diversidade geral e espécies endêmicas da Mata Atlântica, incluindo cerca de 100 espécies de anfíbios anuros (ICMBIO 2008).

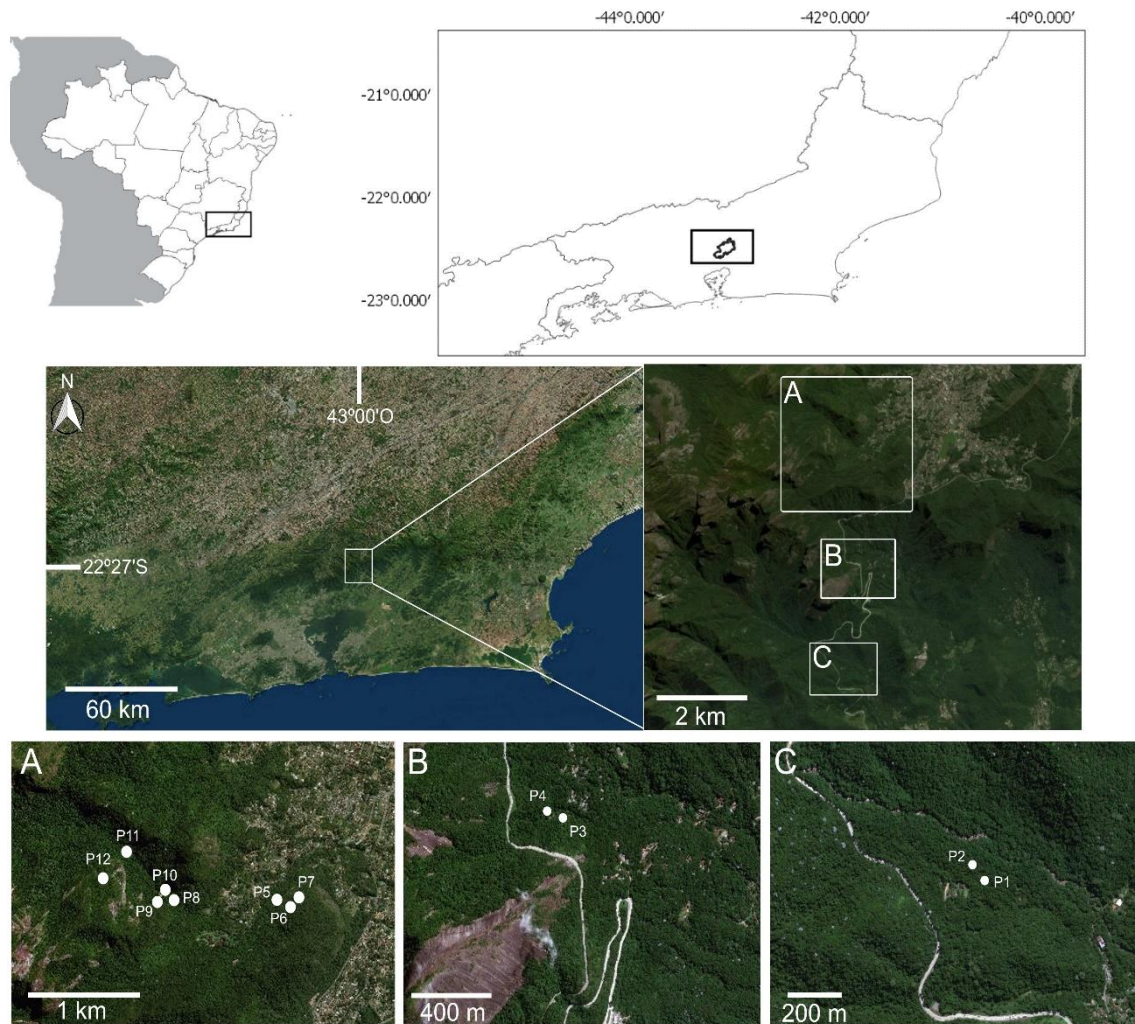


Fig. 1. Pontos de coleta em uma sub-região da Mata Atlântica do sudeste, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Coleta de dados

Realizamos quatro campanhas entre Março/2018 e Fevereiro/2019. Para melhor caracterização dos dados, classificamos as amostragens em estação fria e seca (março/2018

e julho/2018) e quente e chuvosa (novembro/2018 e fevereiro/2019) com base nos parâmetros climáticos previstos para o PARNASO.

Selecionamos 12 pontos ao longo de um gradiente altitudinal distribuídos entre as Sedes de Guapimirim e Teresópolis (Fig. 1). Anteriormente a coleta das larvas, com auxílio de uma sonda multiparamétrica (ORION StarTM A329), foram medidos dados físicos e químicos da água tais como: temperatura (°C), pH ($[H^+]$), oxigênio dissolvido (mg/L^{-1}) e condutividade elétrica ($\mu S\ cm$). A turbidez (N.T.U) foi aferida com turbidímetro digital portátil (INSTRUTHERM TD300). A profundidade máxima (cm) foi obtida com uma trena (0,1 mm de precisão). Com um flutuador plástico, foi estimada a velocidade do fluxo de água (cm/s) utilizando a razão entre a distância percorrida pelo objeto e o tempo de deslocamento, essa medição foi realizada três vezes em cada ponto e os valores utilizados nas análises são oriundos da média entre as três repetições.

Os girinos entre o estágio 25 e 40 (*sensu* Gosner 1960) foram capturados utilizando peneiras de mão (10 cm de diâmetro, 1mm de malha). Para fins de padronização do esforço amostral, foram utilizados dois coletores em cada ponto, mantendo a atividade por um período de 10 minutos.

Após a captura, as larvas foram mortas de acordo com o regulamento brasileiro (Concea) e depositadas na Coleção de Anfíbios da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO). A identificação taxonômica foi realizada com base em descrições disponíveis na literatura.

Após a identificação, os girinos foram agrupados quanto ao seu período de desenvolvimento. As espécies que possuem larvas com tempo de metamorfose mais prolongado, apresentando um crescimento lento e contínuo, e que são visualizadas em todas as estações podendo sobrepor novas cortes, foram classificadas como desenvolvimento longo. Enquanto as que realizam o evento de metamorfose em período

mais reduzido, com crescimento rápido, sendo observadas apenas em períodos restritos ou com reprodução anual com ocorrência sempre de novos indivíduos, foram classificadas como desenvolvimento curto. Tal classificação se deu através de dados disponíveis na literatura sobre a biologia reprodutiva e ontogenia das espécies ou através de observações em campo.

Análise de dados

O *Bd* é encontrado em estruturas queratinizadas de adultos e girinos (Berger et al. 1998, Pessier et al. 1999, Fellers et al. 2001). O disco oral da maioria dos girinos contém bico córneo e fileiras de dentículos, ambos são queratinizados e em geral, fortemente pigmentadas (Altig & McDiarmid, 1999). A presença do patógeno pode provocar despigmentação tanto do bico córneo quanto nas linhas dos dentículos (Lips 1999; Fellers et al. 2001; Rachowicz & Vredenburg 2004; Vieira et al. 2013). Embora a despigmentação também possa resultar da exposição a contaminantes ambientais (Hayes et al. 1997; Rowe et al. 1998; Boyle et al. 2004) ou a temperaturas muito baixas (Rachowicz 2002), o padrão de despigmentação devido à infecção *Bd* é inequívoco; *Bd* provoca despigmentação irregular com perda completa de queratina em áreas localizadas em comparação com áreas circundantes totalmente queratinizadas (Rachowicz & Vredenburg 2004).

Estudos recentes vêm mostrando uma alta proporção de girinos com peças bucais despigmentadas atribuídas ao *Bd* (Lips 1999; Vieira et al. 2013; Valencia-Aguilar et al. 2016; Carvalho et al. 2017; Ribeiro et al. 2019). Além disso, mais de 100 genótipos do *Bd* foram isolados de girinos com despigmentação do disco oral na Mata Atlântica brasileira (Jenkinson et al. 2016). A partir desse embasamento teórico, peças bucais despigmentadas,

com padrões similares aos descritos na literatura, podem ser usados como um indicador eficiente para infecções causada pelo *Bd* no Brasil (Carvalho et al. 2017).

Para a detecção do *Bd*, observamos o aparato bucal dos girinos individualmente em um microscópio de dissecação seguindo as informações de Lambertini et al. 2013. Todas as visualizações foram realizadas pela mesma pessoa (D.N) a fim de padronização. As larvas que apresentaram despigmentação total ou parcial do aparelho bucal compatível com o padrão causado pela quitridiomycose, já descrito na literatura, foram classificadas como *Bd*-positivo (Rachowicz & Vredenburg 2004, Vieira et al. 2013, Obendorf & Dalton 2006). Os indivíduos que apresentaram peças bucais totalmente pigmentadas foram classificados como *Bd*-negativo. Assim como Carvalho et al. (2017), foram incluídos como *Bd*-negativo espécimes que apresentaram despigmentação leve ou com pequenas ausências nas fileiras de dentes, uma vez que essas podem ser removidas através da manipulação.

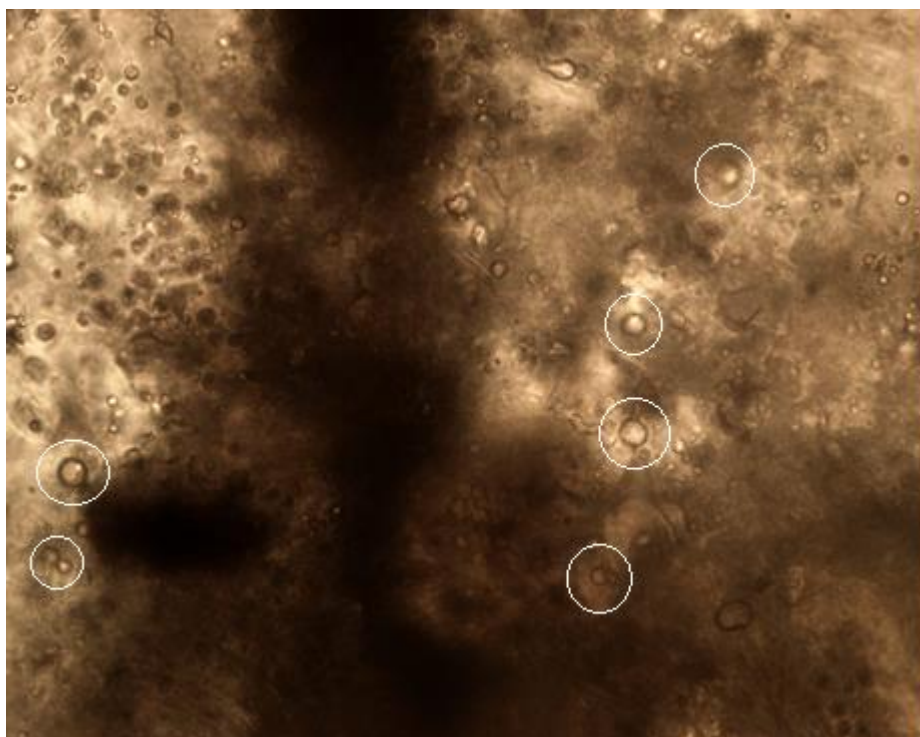


Fig. 2. Fragmento de tecido seccionado do aparato bucal despigmentado do girino de *Bokermannohyla carvalhoi* (UNIRIO 6469) em microscópio óptico (aumento 400x). Os círculos brancos evidenciam os zoosporângios do *Bd*.

Para confirmar a presença de zoosporângios em indivíduos com peças bucais despigmentadas, seccionamos o aparato bucal de cinco girinos (UNIRIO 6469; UNIRIO 6378), fracionando o tecido (fragmentos com aproximadamente 2 mm²) com auxílio de um bisturi. Os fragmentos foram posicionados em uma lâmina de vidro com uma gota de água destilada e observada em microscópio óptico com aumento de 400x durante 30 min seguindo Vieira et al. 2012. Conforme esperado, encontramos zoosporângios do *Bd* em todos os indivíduos inspecionados (Fig. 2), corroborando com outros estudos desenvolvidos na Mata Atlântica (Vieira et al 2013, Valência-Aguilar et al. 2016, Carvalho et al. 2017, Silva et al. 2018; Ribeiro et al. 2019).

Análises estatísticas

A prevalência do *Bd* foi estimada pelo número de girinos com o padrão de despigmentação do disco oral característica para quitridiomiose dividido pelo número total de indivíduos amostrados.

Para avaliar se houve diferença significativa na prevalência do *Bd* entre as estações, realizamos uma análise de variância (ANOVA). Para investigar a relação entre a prevalência do *Bd* nos girinos e as variáveis ambientais, foi construído um conjunto de modelos lineares generalizados de efeito misto (GLMM). O GLMM foi utilizado para levar em consideração a natureza hierárquica do delineamento amostral (Zuur et al. 2009). As variáveis preditoras incluem o período de desenvolvimento (longo ou curto), a temperatura da água, o pH, o oxigênio dissolvido, a condutividade, a turbidez, a profundidade e o fluxo d'água. Os dados foram explorados para detecção de *outliers* a partir de avaliação gráfica e colinearidade pelo coeficiente de correlação de Pearson ($r > 0,70$) e pelo valor de inflação da variância ($vif > 2$) (Zuur et al. 2010). Devido a elevada colinearidade entre os valores de pH e condutividade, o pH foi excluído das análises ($r = 0,82$) (Tabelas S1.1, S1.2, S1.3 e S1.4). A variável

preditora turbidez também foi excluída das análises devido a presença de *outliers*, mesmo após a transformação dos dados (Figura S2.1 e S2.2). Para modelagem da relação entre a variável resposta e as variáveis independentes, foi utilizada uma função de ligação do tipo logística, uma vez que a prevalência do fungo representa uma proporção. O conjunto de modelos representando as hipóteses a serem testadas foi construído com no máximo três variáveis preditoras como efeitos fixos para cada modelo totalizando 16 modelos. Em cada modelo os pontos foram incluídos como efeitos aleatórios para levar em consideração as amostragens repetidas realizadas em cada ponto. Para cada modelo, foi calculado o critério de informação de *Akaike* para amostras pequenas (AICc) e o peso de evidência (w_i). A partir da diferença entre os valores de AICc calculados para cada modelo, o Δ_i , os modelos foram ranqueados. Foram considerados como igualmente plausíveis os modelos com $\Delta_i < 2$ (Jonhson & Omland 2004). O peso de evidência por sua vez representa a probabilidade de que o modelo i seja o mais plausível para os dados observados, dado o conjunto de modelos (Burnham & Anderson 2011). Foi incluído no conjunto de modelos um modelo nulo, contendo apenas o efeito aleatório, para avaliar se o padrão observado pode ter sido simplesmente gerado por uma variação aleatória. Para avaliar a importância relativa de cada variável preditora incluída como efeito fixo nos modelos, foi calculado o somatório dos valores de w_i para cada variável preditora utilizando todos os modelos. As análises foram realizadas utilizando o ambiente R de programação (R core Team 2019).

RESULTADOS

Ao todo, identificamos girinos de 15 espécies nos pontos amostrados. Entre elas, 412 girinos pertencentes a 10 espécies foram classificadas com período de desenvolvimento longo (*Aplastodiscus arildae*, *A. eugenioi*, *A. leucopygius*, *Bokermannohyla carvalhoi*, *B.*

circumdata, *Crossodactylus aeneus*, *Cycloramphus brasiliensis*, *Hylodes asper*, *H. cf pipilans* e *Megaelosia goeldii*) e 133 girinos pertencentes a cinco espécies como período curto de desenvolvimento (*Ololygon albicans*, *O. flavoguttata*, *O. obtriangulata*, *O. sp* e *Proceratophrys appendiculata*).

Detectamos 209 girinos *Bd*-positivo (n = 545), totalizando uma prevalência de 38,3% do patógeno. Apesar dos valores elevados de girinos com peças bucais despigmentadas, não observamos nenhum evento de mortandade ou girinos mortos em nossos pontos de coleta.

Em relação a sazonalidade, encontramos uma maior prevalência do *Bd* na estação fria e seca (48,4%), em comparação com a estação quente e chuvosa (31%). Apesar dos valores indicarem uma maior prevalência do *Bd* durante os períodos mais frios e menos chuvosos, não houve diferença significativa em relação ao período mais quente e úmido (ANOVA, $F_{1,40} = 1,2$, $p = 0,28$) (Fig. 3).

O resultado da seleção de modelos indica que apenas um modelo pode ser considerado o mais plausível. O modelo contendo o período de desenvolvimento, a temperatura e o fluxo d'água foi o mais plausível e com o maior peso de evidência (AICc = 216,68 $w_i = 0,64$) (Tabela 1). A prevalência do fungo foi superior em girinos de desenvolvimento longo (Fig. 4, Tabela 1). Os valores dos coeficientes do modelo e a largura de seus intervalos de confiança permitem afirmar que temperatura e o fluxo d'água apresentaram uma relação negativa com a prevalência do *Bd* nos girinos, ou seja, riachos com temperaturas mais baixas e fluxos relativamente mais lentos, constituem ambientes mais propícios para o patógeno (Fig. 4, Tabela 2). A variável relativamente mais importante foi a temperatura d'água ($\sum w_i = 1$), seguida pela profundidade ($\sum w_i = 0,99$), pela concentração de oxigênio dissolvido ($\sum w_i = 0,65$) e pelo fluxo d'água ($\sum w_i = 0,15$).

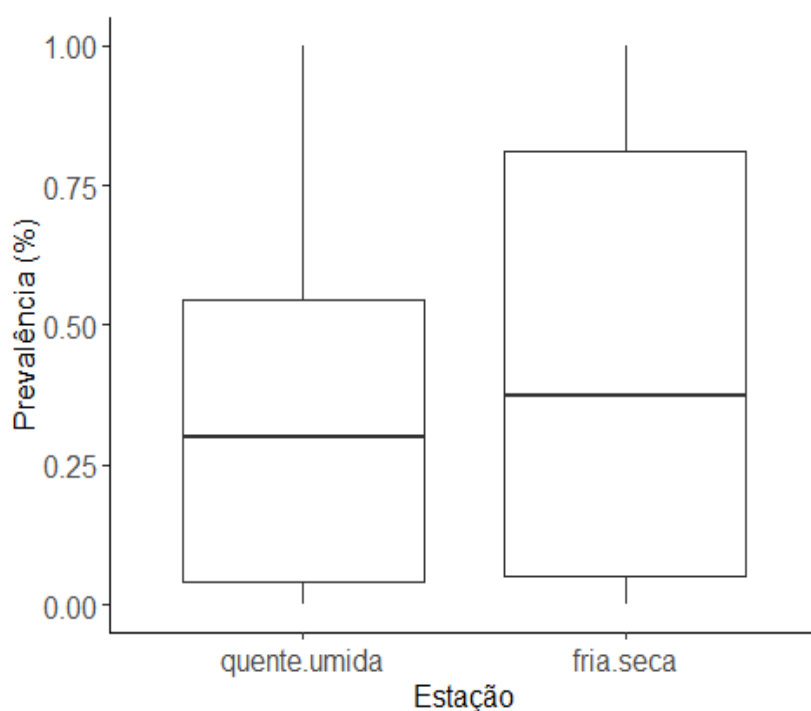


Fig. 3. Boxplot da variação sazonal da prevalência do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* na assembleia de girinos amostrados em 12 pontos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro, Brasil.

Tabela 1 – Seleção dos modelos que explicam a variação da prevalência do *Bd.* em girinos dos riachos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil. K: número de parâmetros do modelo; LL: log da máxima verossimilhança; AICc: Critério de Informação de Akaike para amostras pequenas; Δ AICc: diferença entre o AICc do melhor modelo e o AICc do outros modelos; w_i : peso de evidência a favor de cada modelo.

Modelo	K	LL	AICc	Δ AICc	w_i
Desenvolvimento, temperatura e fluxo d'água	6	-102,783	216,677	0,000	0,640
Desenvolvimento, condutividade e temperatura d'água	6	-104,250	219,611	2,934	0,148
Desenvolvimento e temperatura d'água	5	-105,657	220,040	3,363	0,119
Desenvolvimento, temperatura e profundidade d'água	6	-105,493	222,098	5,421	0,043
Desenvolvimento, temperatura d'água e oxigênio dissolvido	6	-105,636	222,382	5,705	0,037

Desenvolvimento, profundidade e fluxo d'água	6	-107,408	225,927	9,249	0,006
Desenvolvimento, oxigênio dissolvido e fluxo d'água	6	-108,106	227,323	10,646	0,003
Desenvolvimento e fluxo d'água	5	-109,591	227,909	11,232	0,002
Desenvolvimento, condutividade e profundidade	6	-109,116	229,343	12,666	0,001
Desenvolvimento, condutividade e fluxo d'água	6	-109,563	230,237	13,560	0,001
Desenvolvimento e profundidade	5	-111,585	231,897	15,220	0,000
Desenvolvimento, oxigênio dissolvido e profundidade	6	-110,634	232,379	15,702	0,000
Desenvolvimento e oxigênio dissolvido	5	-112,378	233,483	16,806	0,000
Desenvolvimento, condutividade e oxigênio dissolvido	6	-112,066	235,243	18,565	0,000
Desenvolvimento e condutividade	5	-116,627	241,981	25,304	0,000
Nulo	3	-150,845	305,900	89,223	0,000

Tabela 2 – Coeficientes, erros padrão e intervalos de confiança (inferior e superior) do modelo linear generalizado misto da resposta da prevalência do fungo *Bd.* em girinos à duração do período de desenvolvimento, temperatura e fluxo d'água e os pontos especificados como efeito aleatório em riachos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Teresópolis, RJ, Brasil.

Efeitos.fixos	Coeficientes	SE	IC _{inferior}	IC _{superior}
Desenvolvimento curto	2,82	1,39	0,0956	5,5444
Desenvolvimento longo	2,55	0,35	1,8640	3,2360
Temperatura da água	-0,28	0,08	-0,4368	-0,1232
Fluxo d'água	-0,03	0,01	-0,0496	-0,0104
Random effects (variance estimates)	NA	NA	NA	NA
Ponto	1,13	1,07	-0,9672	3,2272

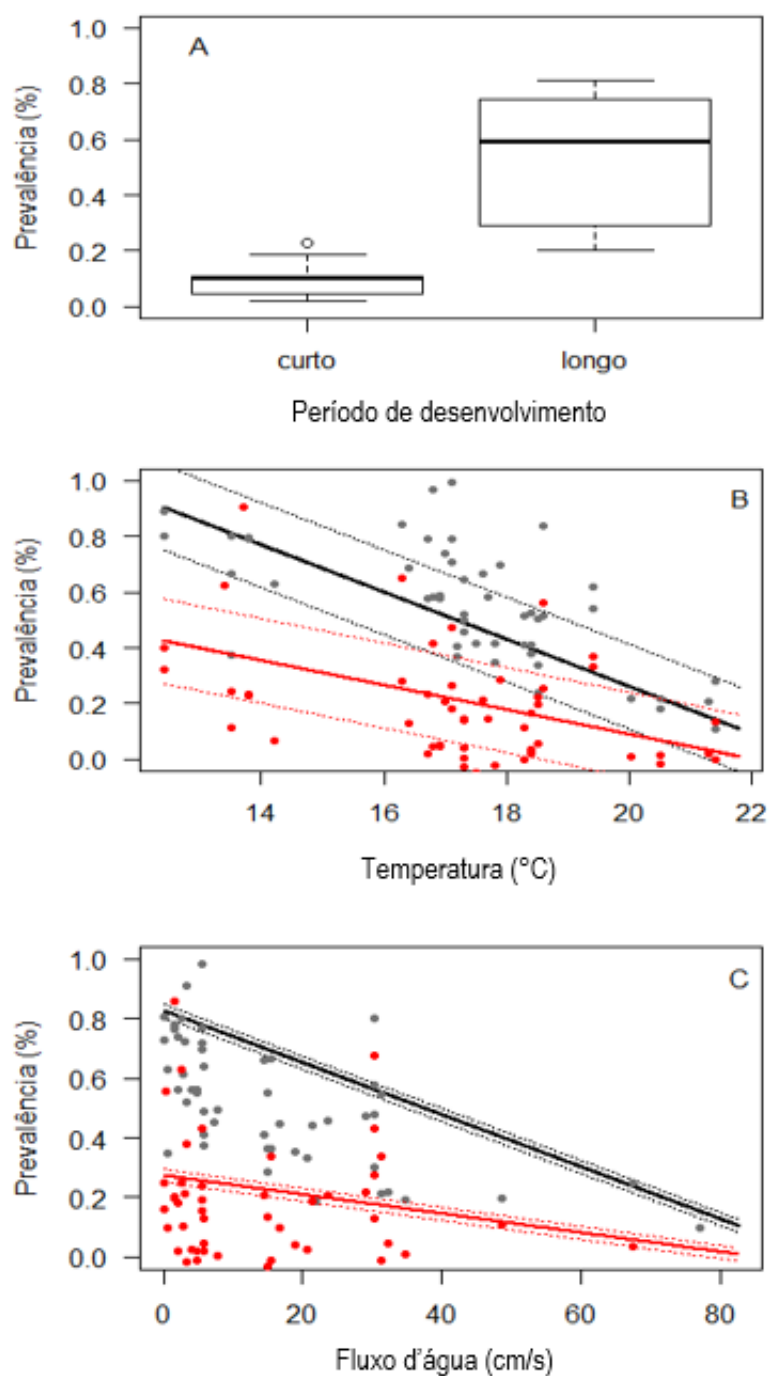


Fig. 4. Efeito do período de desenvolvimento (A), da temperatura (B) e do fluxo d'água (B) sobre a prevalência do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* na assembleia de girinos de riacho do Parque Nacional da Serra dos Órgãos. A linha sólida representa os valores previstos pelo modelo, as linhas tracejadas representam o intervalo de confiança de 95% e os pontos representam os valores de prevalência do fungo quando a temperatura (B) e o fluxo d'água (C) são mantidas constantes. A linha preta representa o modelo de prevalência do

fungo para girinos de desenvolvimento longo e a linha vermelha representa o modelo de prevalência do fungo para girinos de desenvolvimento curto.

DISCUSSÃO

Neste estudo, nós procuramos compreender o grau de prevalência do *Bd* em girinos de riachos da Mata Atlântica, sua variação entre estações do ano e se a duração de seu período de desenvolvimento e características físico-químicas da água a influenciam. Nós demonstramos que aproximadamente 40% dos girinos apresentaram despigmentação do disco oral e, conseqüentemente uma prevalência relativamente elevada do patógeno no estágio lavar. A prevalência do *Bd* nos girinos não variou entre as estações como o esperado. Contudo, ela foi influenciada pela duração do período de desenvolvimento e por características físico-químicas da água corroborando nossas predições. O valor de prevalência registrado é semelhante à de outros estudos realizados com girinos no domínio da Mata Atlântica (ex. Vieira et al. 2013; Valencia–Aguilar et al. 2016; Carvalho et al. 2017; Ruggeri et al. 2018a). Apesar de alguns desses estudos também apontarem o efeito das características físico-químicas da água sobre a prevalência do fungo, diferentemente dos nossos resultados diferenças sazonais na prevalência também vêm sendo registradas na Mata Atlântica (ex. Ruggeri et al. 2015; Valencia-Aguilar et al. 2016; Ruggeri et al. 2018b). A ausência de girinos moribundos ou mortos corrobora a hipótese de que o estágio larvar dos anuros atua como reservatórios para o patógeno (Daszak et al. 2003; Rachowicz & Vredenburg 2004; Blaustein et al. 2005; Catenazzi et al. 2013; Valencia–Aguilar et al. 2016). Nossos resultados também demonstram empiricamente pela primeira vez a importância da duração do período de desenvolvimento para a prevalência do *Bd* em girinos de riachos no domínio da Mata Atlântica.

Observamos um maior número de larvas infectadas na estação seca e fria, contudo não fomos capazes de demonstrar uma diferença significativa na prevalência do *Bd* entre os períodos quente/úmido e frio/seco. Diversos estudos indicam que a prevalência do *Bd* sofre influências sazonais (Kringer & Hero 2006; Catenazzi et al. 2013; Ruggeri et al. 2015; Valencia–Aguilar et al. 2016; Sonn et al. 2019). Aumentos na prevalência, carga de infecção e eventos de mortalidade em massa foram registrados com maiores intensidades em meses com temperaturas mais baixas em diversas regiões do mundo (Kringer & Hero 2006; Kilpatrick et al. 2010; Sapsford et al. 2013; Raffel et al. 2015; Brannelly et al. 2018; Sonn et al. 2019). A ausência de diferença na prevalência do *Bd* entre as estações pode estar associada ao predomínio de espécies cujos girinos apresentam um longo período de desenvolvimento. Estes girinos podem permanecer infectados na água entre diferentes estações. Como funcionam como reservatórios da doença, também irão favorecer a infecção de novos girinos que eventualmente entrem na água ao longo do ano. Sua persistência na água entre diferentes estações e atuação como reservatório do fungo podem ter atuado conjuntamente para diluir os efeitos da sazonalidade sobre a prevalência do *Bd*.

O fator intrínseco duração do período de desenvolvimento, mostrou-se um bom preditor da prevalência do *Bd* nos girinos. No nosso estudo, os girinos com período de desenvolvimento mais longo, apresentaram uma maior incidência da quitridiomíose, quando comparados aos girinos que se desenvolvem mais rapidamente. Girinos que se desenvolvem em ambientes permanentes apresentam prevalência mais elevada de *Bd* do que aqueles que se desenvolvem em ambientes temporários (Ruggeri et al. 2018a). Girinos de tamanho maiores e estágios mais avançados, também tendem a apresentar uma maior prevalência do patógeno (Smith et al. 2007; Symonds et al. 2007; Conradie et al. 2011; Vieira et al. 2013; Catenazzi et al. 2013; Silva et al. 2018). Nós sugerimos que o mecanismo que explica a maior prevalência do fungo em ambas as situações é a duração do período de

permanência dos girinos na água. Devido a estabilidade hídrica proporcionada por ambientes permanentes, os girinos podem investir em crescimento, retardando a conclusão da metamorfose, atingindo maiores tamanhos ao seu final e permanecendo por um período de tempo mais longo na água quando comparado a girinos que se desenvolvem em ambientes temporários (Wells 2007; Ultsch et al. 1999). Nossos resultados reforçam a hipótese de que o maior período de desenvolvimento, eleva a probabilidade de se desenvolver a quitridiomiose ao elevar também o período de exposição dos indivíduos aos zoósporos aquáticos (Catenazzi et al. 2013; Ruggeri et al. 2018a; Silva et al. 2018).

Encontramos uma associação negativa entre a temperatura dos riachos e a prevalência do *Bd*. Ou seja, em riachos com temperaturas mais baixas houve uma maior probabilidade do hospedeiro contrair o patógeno. Muitos patógenos possuem transmissão e ciclos de vida dependentes da temperatura (Altizer et al. 2013). Além disso, a temperatura pode influenciar as habilidades de defesa dos hospedeiros contra agentes infecciosos. Os anfíbios são animais ectotérmicos e, variações térmicas exercem efeitos diretos em seu sistema imunológico (Raffel et al. 2006). Ribas et al. 2009, descrevem que em baixas temperaturas espécimes adultos de *Silurana tropicalis* perdem a capacidade de montar uma resposta imunológica inata baseada na produção de antimicrobial skin peptide preprocareulein (PPCP) e, em vez disso, manifestam uma resposta inflamatória mais pronunciada, caracterizada pela produção de proteases e altas cargas do *Bd*. Entretanto, para a fase de vida larvar, pouco se sabe sobre a dependência da temperatura em funções do sistema imune. Ao encontrarem elevadas cargas do *Bd* em girinos de *Alytes obstetrican* sobre baixas temperaturas, Fernández-Beaskoetxea et al. 2015 especulam que seus resultados podem dever-se à inibição imune dependente da temperatura, ou seja, a temperatura poderia afetar vertentes da imunidade adaptativa e inata dos girinos, incluindo a capacidade de síntese de peptídeos antimicrobianos. Acreditamos fortemente que o sistema imunológico

das larvas pode ser afetado negativamente por baixas temperaturas explicando a maior prevalência do *Bd* em temperaturas baixas.

A temperatura influencia o crescimento, a sobrevivência e a virulência do *Bd* (Muletz-Wolz et al. 2019). O *Bd* geralmente cresce e amadurece mais lentamente a temperaturas mais baixas *in vitro* (Piotrowski et al. 2004; Stevenson et al. 2013; Woodhams et al. 2008; Voyles 2011). Entretanto, em temperaturas mais baixas, nota-se também a presença de zoosporângios maiores (Muletz-Wolz et al. 2019). Um tamanho maior dos zoosporângios está associado a maior virulência de *Bd* (Fisher et al. 2009; Lambertini et al. 2016), provavelmente porque zoosporângios maiores são mais prejudiciais à função da pele dos anfíbios (Greenspan et al. 2012) e produzem zoósporos maiores, em maiores quantidades e com período de vida mais longo (Woodhams et al. 2008; Hyatt et al. 2007; Stevenson et al. 2013; Muletz-Wolz et al. 2019). Uma maior produção de zoósporos infecciosos por um período mais longo de tempo está relacionada à eventos de mortalidade em anfíbios (Piovia-Scott et al. 2015; Lambertini et al. 2016; Maguire et al. 2016).

O aumento da intensidade do fluxo d'água dos riachos também apresentou uma relação negativa com a prevalência do *Bd*. Assim como na porção sul da Mata Atlântica, essa relação se manteve de forma similar para populações e assembleias de anfíbios no norte da Mata Atlântica (Valência-Aguilar et al. 2016), Andes peruano (Catenazzi et al. 2013) e Campos africanos (Conradie et al. 2011). Quanto menor o fluxo d'água, provavelmente maior será o tempo de permanência do *Bd* na água, aumentando a probabilidade de contato do fungo com seus hospedeiros. Córregos de fluxo d'água rápido podem reduzir o contato entre os hospedeiros e dificultar a permanência dos zoósporos, diminuindo assim a possibilidade da infecção (ex. Catenazzi et al. 2013).

Em resumo, nossos dados suportam evidências anteriores de que o *Bd* desempenha efeitos subletais em girinos, mesmo após a completa despigmentação do disco oral, fazendo

com que as larvas atuem como reservatórios para o fungo. Além disso, os resultados permitem inferir que assembleias de anfíbios que apresentam girinos de riachos e com longos períodos de desenvolvimento podem estar propensas a maiores riscos de surtos de quitridiomicose uma vez que seus girinos apresentam maior prevalência do *Bd*. A interação de diversos fatores ambientais influencia a dinâmica do *Bd* (ex. Valencia–Aguilar et al. 2016) e nossos dados reforçam essa dinâmica, demonstrando que além da temperatura e da intensidade do fluxo d'água, fatores intrínsecos relacionados a história natural dos hospedeiros podem desempenhar um importante papel nessa interação.

REFERÊNCIAS

- Altizer S, Ostfeld RS, Johnson PTJ, Kutz S, Harvell CD (2013) Climate change and infectious diseases: from evidence to a predictive framework. *Science* 341:514–519.
- Berger L, Speare R, Daszak P, Green D.E, Cunningham AA, Goggin CL, Slocombe R, Ragan MA, Hyatt AD, McDonald KR, Hines HB, Lips KR, Marantelli G, Parkes H (1998) Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Science* 95:9031–9036.
- Berger LAA, Roberts J, Voyles JE Longcore, Murray KA, Skerratt L (2016) History and recent progress on chytridiomycosis in amphibians. *Fungal Ecology* 19:89–99.
- Blaustein AR, Romansic JM, Scheessele EA, Han B, Pessier AP, Longcore JE (2005) Interspecific variation in susceptibility of frog tadpoles to the pathogenic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Conserv Biol* 19:1460–1468.
- Borges-Junior VNT, Rocha CFD (2013) Tropical tadpole assemblages: which factors affect their structure and distribution? *Oecologia Australis* 17:27–38.
- Boyle DG, Boyle DB, Olsen V, Morgan JAT, Hyatt AD (2004) Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Diseases of aquatic organisms* 60:141-148.
- Brannelly LA, Chatfield MWH, Sonn J, Robak M, Richards-Zawacki CL (2018) Fungal infection has sublethal effects in a lowland subtropical amphibian population. *BMC Ecology* 18:34.
- Buck JC, Scheessele EA, Relyea RA, Blaustein AR (2012) The effects of multiple stressors on wetland communities: pesticides, pathogens and competing amphibians. *Freshwat Biol* 57:61–73.

- Burnham KP, Anderson DR, Huyvaert KP (2011) AIC model selection and multi model inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 65:23–35.
- Carvalho T, Becker CG, Toledo LF (2017) Historical amphibian declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284: 20162254.
- Catenazzi A, von May R, Vredenburg VT (2013) High prevalence of infection in tadpoles increases vulnerability to fungal pathogen in high-Andean amphibians. *Biological Conservation* 159:413–421.
- Conradie W, Weldon C, Smith KF, du Preez LH (2011) Seasonal pattern of chytridiomycosis in common river frog (*Amietia angolensis*) tadpoles in the South African grassland biome. *Afr. Zool* 46:95–102.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD (2003) Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distribution* 9:141–150.
- Eterovick PC, de Queiroz Carnaval ACO, Borges-Nojosa DM, Silvano DL, Segalla MV, Sazima I (2005) Amphibian Declines in Brazil: An Overview 1. *Biotropica: The Journal of Biology and Conservation* 37:166–179.
- Fellers GM, Green DE, Longcore JE (2001) Oral chytridiomycosis in the mountain yellow-legged frog (*Rana muscosa*). *Copeia* 2001:945–953.
- Fisher MC, Garner TWJ, Walker SF (2009) Global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and amphibian chytridiomycosis in space, time and host. *Annual Review of Microbiology* 63:291–310.
- Garner TWJ, Walker S, Bosch J, Leech S, Rowcliffe JM, Cunningham AA, Fisher MC (2009) Life history tradeoffs influence mortality associated with the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Oikos* 118:783–91.

- Gervasi S, Gondhalekar C, Olson DH, Blaustein AR (2013) Host identity matters in the amphibian–*Batrachochytrium dendrobatidis* system: Fine–scale patterns of variation in responses to a multi–host pathogen. *PLOS ONE* 8:e54490.
- Gervasi SS, Stephens PR, Hua J, Searle CL, Xie GY, Urbina J, Olson DH, Bancroft BA, Weis V, Hammond JI, Relyea RA, Blaustein AR (2017) Linking ecology and epidemiology to understand predictors of multi-host responses to an emerging pathogen, the amphibian chytrid fungus. *PLOS ONE* 12:e0167882.
- Gosner KL (1960) A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16:183–190.
- Gower DJ, Doherty-Bone, T, Loader SP, Wilkinson M, Kouete MT, Tapley B, Orton F, Daniel OZ, Wynne F, Flach E, Muller H, Menegon M, Stephen I, Browne RK, Fisher MC, Cunningham AA, Garner TW (2013) *Batrachochytrium dendrobatidis* infection and lethal chytridiomycosis in caecilian amphibians (Gymnophiona). *EcoHealth* 173e183.
- Greenspan SE, Calhoun AJ, Longcore JE, Levy MG (2012) Transmission of *Batrachochytrium dendrobatidis* to wood frogs (*Lithobates sylvaticus*) via a bullfrog (*L. catesbeianus*) vector. *Journal of Wildlife Diseases* 48:575–582.
- Han BA, Bradley PW, Blaustein AR (2008) Ancient behaviors of larval amphibians in response to an emerging fungal pathogen, *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Behav Ecol Sociobiol* 63:241–50.
- Hasui Y (1975) Evolução polifásica do precambriano a oeste de São Paulo. *Boletim IG* 6:95–108.
- Haydon DT, Cleaveland S, Taylor LH, Laurenson MK (2002) Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases* 8:1468–1473.

- Heyer WR, Rand AS, da Cruz CAG, Peixoto OL (1988) Decimations, extinctions, and colonizations of frog populations in southeast Brazil and their evolutionary implications. **Biotropica** 20:230–235.
- Hayes TB, Wu TH, Gill TN (1997) DDT-like effects as a result of corticosterone treatment in an anuran amphibian: Is DDT a corticoid mimic or a stressor?. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 16:1948-1953.
- Hoff KS, Blaustein AR, McDiarmid RW, Altig R (1999) Behaviour: interactions and their consequences. In: McDiarmid RW, Altig R (eds) *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. University of Chicago Press, Chicago, p 215–239.
- Hyatt AD, Boyle DG, Olsen V, Boyle DB and others (2007) Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Dis Aquat Org* 73: 175–192.
- ICMBIO (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade). Plano de manejo do Parque Nacional da Serra dos Órgãos. p. 665, 2008.
- Jenkinson TS, Betancourt Román CM, Lambertini C, Valencia-Aguilar A and others (2016) Amphibian-killing chytrid in Brazil comprises both locally endemic and globally expanding populations. *Molecular ecology* 25:2978–2996.
- Kilpatrick AM, Briggs CJ, Daszak P (2010) The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians. *Trends in Ecology & Evolution* 25:109–118.
- Kruger KM, Hero JM (2006) Survivorship in wild frogs infected with chytridiomycosis. *EcoHealth*, 3:171.
- Kruger KM, Pereoglou F, Hero JM (2007) Latitudinal variation in the prevalence and intensity of chytrid (*Batrachochytrium dendrobatidis*) infection in eastern Australia. *Conservation Biology* 21:1280-1290.

- Lambertini C, Rodrigues D, Brito FB, Leite DS, Toledo LF.(2013) Diagnóstico do fungo quitrídio: *Batrachochytrium dendrobatidis*. Herpetol Brasil 2:12–17.
- Lambertini C, Becker CG, Jenkinson TS, Rodriguez D and others (2016) Local phenotypic variation in amphibian-killing fungus predicts infection dynamics. Fungal ecology 20:15–21.
- Lips KR (1999) Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in western Panama. Conserv Biol 13: 117–125.
- Longcore JE, Pessier AP, Nichols DK (1999) *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. Mycologia 91:219–227.
- Maguire C, DiRenzo GV, Tunstall TS, Muletz CR, Zamudio KR, Lips KR (2016) Dead or alive? Viability of chytrid zoospores shed from live amphibian hosts. Diseases of aquatic organisms 119:179–187.
- Marantelli G, Berger L, Speare R, Keegan L (2004) Distribution of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* and keratin during tadpole development. Pac Conserv Biol 10:173–9.
- McMahon TA, Rohr JR (2015) Transition of chytrid fungus infection from mouthparts to hind limbs during amphibian metamorphosis. EcoHealth 12:188–93.
- Muletz-Wolz CR, Barnett SE, DiRenzo GV, Zamudio KR, Toledo LF, James TY, Lips KR (2019) Diverse genotypes of the amphibian-killing fungus produce distinct phenotypes through plastic responses to temperature. Journal of evolutionary biology 32:287–298.
- Obendorf DL, Dalton A (2006) A survey for the presence of the amphibian chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in Tasmania. Pap Proc R Soc Tasmania 140:25–30.
- Pessier AP, Nichols DK, Longcore JE, Fuller MS (1999) Cutaneous chytridiomycosis in poison dart frogs (*Dendrobates spp.*) and White's tree frogs (*Litoria caerulea*). Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 11:194–199.

- Piotrowski JS, Annis SL, Longcore JE (2004) Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia* 96:9–15.
- Piovia-Scott J, Pope K, Worth SJ, Rosenblum EB and others (2015) Correlates of virulence in a frog-killing fungal pathogen: evidence from a California amphibian decline. *The ISME journal* 9:1570.
- R Development Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing [Internet]. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. www.r-project.org
- Rachowicz LJ (2002) Mouthpart pigmentation in *Rana muscosa* tadpoles: seasonal changes without chytridiomycosis. *Herpetological Review* 33:263.
- Rachowicz LJ, Vredenburg VT (2004) Transmission of *Batrachochytrium dendrobatidis* within and between amphibian life stages. *Diseases of aquatic organisms* 61:75–83.
- Raffel TR, Rohr JR, Kiesecker JM, Hudson PJ (2006) Negative effects of changing temperature on amphibian immunity under field conditions. *Functional Ecology* 20:819–828.
- Raffel TR, Halstead NT, McMahon TA, Davis AK, Rohr JR (2015) Temperature variability and moisture synergistically interact to exacerbate an epizootic disease. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 282:1–6.
- Ribas L, Li MS, Doddington BJ, Robert J and others (2009) Expression profiling the temperature-dependent amphibian response to infection by *Batrachochytrium dendrobatidis*. *PloS one* 4.
- Ribeiro LP, Carvalho T, Becker CG, Jenkinson TS and others (2019) Bullfrog farms release virulent zoospores of the frog-killing fungus into the natural environment. *Scientific reports* 9:1–10.

- Richards-Zawacki CL (2010) Thermoregulatory behavior affects prevalence of chytrid fungal infection in a wild population of Panamanian golden frogs. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 277:519–528.
- Rowe CL, Kinney OM, Congdon JD (1998) Oral deformities in tadpoles of the bullfrog (*Rana catesbeiana*) caused by conditions in a polluted habitat. *Copeia* 1998:244–246.
- Rowley JLL, Alford RA, (2013) Hot bodies protect amphibians against chytrid infection in nature. *Scientific Reports* 3:1515.
- Ruggeri J, Longo AV, Gaiarsa MP, Alencar LRV, Lambertini C, Leite DS, Carvalho-e-Silva SP, Zamudio KR, Toledo LF, Martins M (2015) Seasonal variation in population abundance and chytrid infection in stream-dwelling frogs of the Brazilian Atlantic forest. *PLOS ONE* 10:e0130554.
- Ruggeri, J, Toledo LF, Carvalho-e-Silva SP (2018a) Stream tadpoles present high prevalence but low infection loads of *Batrachochytrium dendrobatidis* (Chytridiomycota). *Hydrobiologia* 806:303–311.
- Ruggeri J, Carvalho-e-Silva SP, James TY, Toledo LF (2018b) Amphibian chytrid infection is influenced by rainfall seasonality and water availability. *Diseases of aquatic organisms* 127:107–115.
- Sapsford SJ, Alford RA, Schwarzkopf L (2013) Elevation, temperature, and aquatic connectivity all influence the infection dynamics of the amphibian chytrid fungus in adult frogs. *PLOS ONE* 8: e82425.
- Scheele BC, Pasmans F, Skerratt LF, Berger L and others (2019) Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science* 363:1459–463.
- Silva DN, Rosa FCB, Carvalho-e-Silva AMT (2018) Ontogeny and behavioural aspects of the tadpoles of *Megaelosia goeldii* (Baumann, 1912) (Amphibia, Anura, Hylodidae). *Herpetology Notes* 11:629–639.

- Skerratt LF, Berger L, Speare R, Cashins S, McDonald KR, Phillott AD, Hines HB, Kenyon N (2007) Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *Ecohealth* 4:125–34.
- Smith KG, Weldon C, Conradie W, du Preez LH (2007) Relationships among size, development, and *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in African tadpoles. *Dis. Aquat. Organ.* 74:159–164.
- Sonn J M, Utz RM, Richards-Zawacki CL (2019) Effects of latitudinal, seasonal, and daily temperature variations on chytrid fungal infections in a North American frog. *Ecosphere* 10.
- Sparrow F (1968) Ecology of freshwater fungi. In: Ainsworth G, Sussman A (eds) *The fungi — an advanced treatise, The fungal population, Vol 3*. Academic Press, New York, p 41–93
- Stevenson LA, Alford R A, Bell SC, Roznik EA, Berger L, Pike DA (2013) Variation in thermal performance of a widespread pathogen, the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *PLOS ONE* 8:e73830.
- Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues AS, Fischman DL, Waller RW (2004) Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306:1783–1786.
- Symonds EP, Hines HB, Bird PS, Morton JM, Mills PC (2007) Surveillance for *Batrachochytrium dendrobatidis* using mixophyes (anura: myobatrachidae) larvae. *Journal of Wildlife Diseases* 43:48–60.
- Ultsch GR, Bradford DF, Freda J (1999) Physiology: coping with the environment. In: McDiarmid RW, Altig R (eds) *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. University of Chicago Press, Chicago, p 215–239.

- Valencia-Aguilar A, Toledo LF, Vital MV, Mott T (2016) Seasonality, environmental factors, and host behavior linked to disease risk in stream-dwelling tadpoles. *Herpetologica* 72:98–106.
- Vieira CA, Toledo LF, Longcore JE, Longcore, JR (2013) Body length of *Hylodes cf. ornatus* and *Lithobates catesbeianus* tadpoles, depigmentation of mouthparts, and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* are related. *Brazilian Journal of Biology* 73:195–199.
- Voyles J (2011) Phenotypic profiling of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a lethal fungal pathogen of amphibians. *fungal ecology* 4:196–200.
- Voyles J, Johnson LR, Rohr J, Kelly R, Barron C, Miller, D, Minster J, Rosenblum EB (2017) Diversity in growth patterns among strains of the lethal fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* across extended thermal optima. *Oecologia* 184:363-373.
- Wake DB, Vredenburg VT. (2008) Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proc Natl Acad Sci.* 105(Supplement 1):11466–73.
- Wells KD (2007) *The ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press, Chicago/Illinois.
- Weygoldt P (1989) Changes in the composition of mountain stream frog communities in the Atlantic mountains of Brazil: frogs as indicators of environmental deteriorations?. *Stud Neotrop Fauna Environ* 24:249–255.
- Woodhams DC, Alford RA (2005) Ecology of chytridiomycosis in rainforest stream frog assemblages of tropical Queensland. *Conservation Biology* 19:1449–1459.
- Woodhams DC, Alford RA, Briggs CJ, Johnson M, Rollins-Smith LA (2008) Life-history trade-offs influence disease in changing climates: strategies of an amphibian pathogen. *Ecology* 89:1627–1639.

Woolhouse MEJ, Taylor LH, Haydon DT (2001) Population biology of multihost pathogens. *Science* 292:1109–1112.

Zuur AF, Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA, Smith GM (2009) *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer, USA/NY.

Zuur AF, Ieno EM, Elphick CS (2010) A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods Ecol Evol* 1:3–14.

APÊNDICE 1

Tabela S1.1. Correlação entre as variáveis abióticas dos riachos. As variáveis pH e condutividade apresentam correlação ($r = 0.82$) indicando elevado grau de colinearidade entre essas variáveis.

	temp.agua	ph	oxg.dis	cond	turb	prof	fluxo
temp.agua	1.0000000	0.579 1497	0.39506 48	0.52522 07	0.17863 27	0.01131 84	0.55860 94
pH		1.000 0000	0.11669 14	0.81540 67	0.23920 51	- 0.00950 24	0.49460 23
oxg.dis			1.00000 00	- 0.00673 40	- 0.08030 53	0.14359 69	0.15517 85
Cond				1.00000 00	0.32245 97	- 0.25974 69	0.58553 63
Turb					1.00000 00	- 0.14922 47	0.23236 66
Prof						1.00000 00	0.02860 33
Fluxo							1.00000 00

Tabela S1.2. Valores de inflação da variância. valores de VIF (pH = 3.56, condutividade = 4.36) indicando elevado grau de colinearidade entre essas variáveis.

	Vif
temp.agua	2.207762
Ph	3.558906
oxg.dis	1.294842
Cond	4.359686
Turb	1.144998
Prof	1.263258
Fluxo	1.905791

Tabela S1.3. Correlação entre as variáveis abióticas dos riachos. Ao excluir o pH todas as correlções permaneceram inferiores a 0,70, indicando ausência de colinearidade entre as variáveis abióticas do riacho.

	temp.agua	oxg.dis	cond	turb	prof	fluxo
temp.agua	1.0000000	0.3950648	0.5252207	0.1786327	0.0113184	0.5586094
oxg.dis		1.0000000	-	-	0.1435969	0.1551785
			0.0067340	0.0803053		
Cond			1.0000000	0.3224597	-	0.5855363
					0.2597469	
Turb				1.0000000	-	0.2323666
					0.1492247	
Prof					1.0000000	0.0286033
Fluxo						1.0000000

Tabela S1.4. Valores de inflação da variância. Todos os valores de VIF inferiores a 3, indicando ausência de colinearidade entre as variáveis abióticas do riacho

	vif2
temp.agua	1.974576
oxg.dis	1.300347
Cond	2.063399
Turb	1.138784
Prof	1.158239
Fluxo	1.823643

APÊNDICE 2

Figura S2.1. Identificação de presença de outliers no ponto 2 (P2).

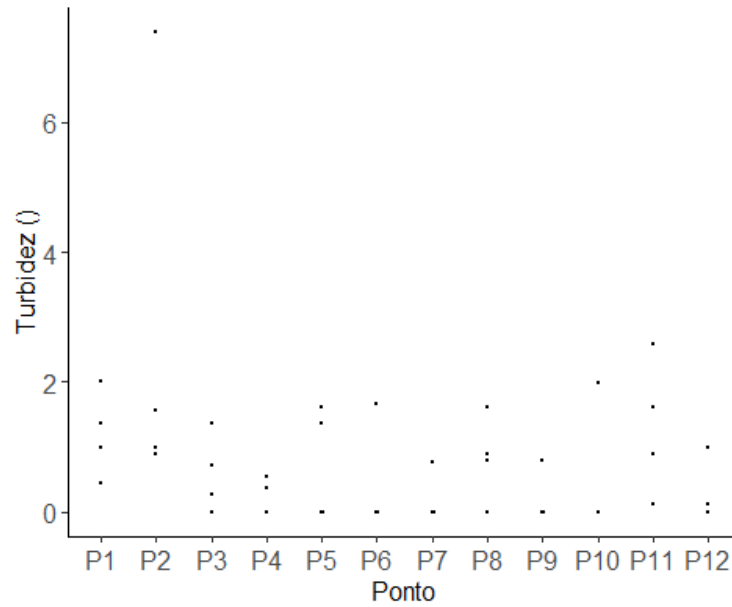


Figura S2.2. Identificação da presença de *outliers* no ponto 2 (P2) mesmo após a logaritmização.

