

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL

CAROLINE NECTOUX CULAU

**A RELAÇÃO DA GLÂNDULA FRONTAL COM A DIETA DO SAPINHO-DE-
BARRIGA-VERMELHA, *Melanoprhyniscus cambarensis* BRAUN & BRAUN
1979**

IMBÉ
2018

CAROLINE NECTOUX CULAU

**A RELAÇÃO DA GLÂNDULA FRONTAL COM A DIETA DO SAPINHO-DE-BARRIGA-VERMELHA, *Melanoprhyniscus cambarensis* BRAUN & BRAUN
1979**

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul em convênio com a Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Orientadores: Prof. Dr. Márcio Borges-Martins e Dr. Patrick Colombo

Imbé

2018

Aos examinadores, este trabalho está formatado segundo “SILVA, L. N. et al. Manual de Trabalhos Acadêmicos e Científicos: Orientações Práticas à Comunidade Universitária da UERGS. Porto Alegre: UERGS, 2013. 149 p.” que é baseado nas normas da ABNT.

CIP - Catalogação na Publicação

Nectoux Culau, Caroline

A RELAÇÃO DA GLÂNDULA FRONTAL COM A DIETA DO
SAPINHO-DE-BARRIGA-VERMELHA, *Melanophrhyniscus*
cambarensis BRAUN & BRAUN 1979 / Caroline Nectoux
Culau. -- 2018.
32 f.

Orientadores: Patrick Colombo, Márcio
Borges-Martins.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Biociências, Curso de Ciências Biológicas: Biologia
Marinha e Costeira, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Ecologia alimentar. 2. Alcaloides. 3. Tumefação.
4. Mata Atlântica. 5. *Melanophrhyniscus*. I. Colombo,
Patrick, orient. II. Borges-Martins, Márcio, orient.
III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CAROLINE NECTOUX CULAU

**A RELAÇÃO DA GLÂNDULA FRONTAL COM A DIETA DO SAPINHO-DE-BARRIGA-VERMELHA, *Melanoprhyniscus cambarensis* BRAUN & BRAUN
1979**

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul em convênio com a Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Aprovado em:/...../.....

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Raul Maneyro

Ms. Michele Abadie

Prof. Dr. João Fernando Prado

Coordenador da atividade Trabalho de Conclusão de Curso II - CBM

Imbé

2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer ao Universo por ter colocado tantas pessoas boas no meu caminho que me levaram a ser o que sou hoje e a realizar tudo que realizei e vou realizar em minha vida!

Agradeço aos meus pais e minha irmã, minha base incansável, que sempre me escutaram falar sobre qualquer assunto sem cessar, que sempre estiveram ali para apoiar e dar suporte, que entenderam a minha ausência e me completam de amor e segurança. Que sempre me incentivaram à estudar e comemoraram comigo todas as conquistas. Não há palavras que possa explicar tanta gratidão!

Sem palavras para justificar, apenas por me sentir grata pelos ensinamentos por eles passado e pelo amor incomparável, aos meus avós!

Ao meu afilhado, Luan, minha maior motivação de ser exemplo e uma pessoa boa na vida, meu companheiro e dono de um amor incondicional e inexplicável.

Ao meu parceiro, Leo, que esteve sempre do meu lado, desde o início da descoberta deste amor pelos sapos, no desespero e nas alegrias, obrigada por sempre entender a ausência nos finais de semana de campo, por sempre estar disposto a ajudar, estudar e viver comigo. Todo o oceano.

Aos meus cachorros (Snow, Cacau e Panda) pelo amor, lambidas e patadas que recebi.

À minha família de coração: Patrick, Carol, Mari, Dener, Marcelo, Deivid, Marjo, Duda e Bibi, que estiveram do meu lado sempre, ajudando a triar material, coletar, pegar chuva – muita chuva -, discutir artigo, comemorar, falar besteira, comer porcaria, beber, fazer campo e ser apoio sempre! Vocês são incríveis e eu não poderia ter encontrado pessoas melhores. Agradecimento especial ao Patrick, meu tata, pela paciência “*de jó*” que tiveste comigo, pelo ombro amigo sempre, pelos abraços, pelas risadas, pelas piadas *nem sempre* com graça, pelo apoio e por todo o conhecimento que tu me passaste, saiba que fizeste muita diferença na minha vida, minhas escolhas, minhas decisões e na minha formação e, inclusive, foste um diferencial nela, obrigada! Marjo, sem palavras pra descrever, aguentou muitos mm de chuva, muito frio e poucas horas de sono, muita reflexão sobre a vida, sintonia sem explicação! Team FLONA: não poderia existir time melhor de trabalho, vocês são incríveis, amo vocês! Dener, irmão da vida, irmão de signo, irmão de coração, obrigada por tudo, e principalmente por estar sempre pronto pra ajudar e dar apoio, te amo. Mari, minha irmã da vida, não tem como explicar nossa amizade e tudo que envolve ela, obrigada por ter me dado tanto apoio nos momentos de tristeza e por não ter me deixado desistir disso tudo, te amo muito meu xuxu!!

Minhas amigas da faculdade: Dani, Thamara, Ross e Maria que desde o primeiro dia de aula estiveram do meu lado, que enfrentaram muita barra e também muitas alegrias. Impossível eu ter chegado aqui sem a ajuda de vocês, sinto falta de nós todos os dias, amo vocês minhas amigas maravilhosas! Dani, em especial pra ti, que desde o primeiro dia mesmo teve do meu lado, vivemos muita coisa juntas, aprendemos muito uma com a outra e a nossa amizade tem um jeitinho que é só dela, obrigada mesmo, por estar do meu lado em todos os momentos, de fato, tu é sensacional!

Aos meus xoxelenes (Amandinha, Rush, Leo e Dani), parceiros de aventuras, acampamentos e viagens, amo vocês!!

Jhonny e Marcos, amigos que amo e considero demais.

Ao Vini Ferri por ter me ajudado muito a aprender a identificar as espécies no início de tudo!

Ao Márcio, pela orientação e ajuda sempre.

À Edenice, gestora da Floresta Nacional de São Francisco de Paula e ao ICMBio que propiciaram que acontecesse o campo e este trabalho.

Ao Curicaca e toda sua equipe: Xandi, Carol, Bel, Bruna, Rodri, Leti, Kassi e Lala, que me fizeram aprender muito e foram essenciais nessa trajetória final da faculdade, adoro vocês, curipeople!

Aos pesquisadores da Fundação Zoobotânica do RS (Viva) que sempre se dispuseram a ajudar nas identificações dos materiais.

À Fundação Zoobotânica do RS que me disponibilizou local para a realização da triagem do material e infraestrutura para a execução deste trabalho, além de ter me propiciado uma vivência única dentro da instituição junto de tantos pesquisadores únicos, permitindo troca de saberes e conhecimentos, me tornando uma profissional melhor!

Aos membros da banca, Mi e Raul, pela disponibilidade e pelas contribuições!

Obrigada do fundo do meu coração a todos, vocês fazem a diferença na minha vida!



RESUMO

A dieta é um dos componentes da história natural dos organismos que amplia nosso conhecimento sobre suas relações com o ambiente, no caso de alguns anfíbios, sobre o sequestro de alcaloides tóxicos defensivos. O gênero de sapinhos-de-barriga-vermelha, *Melanophryniscus*, é um dos que sequestram essas substâncias de uma dieta a base de ácaros e formigas. Esses compostos são estocados em glândulas na pele e em algumas espécies em uma glândula frontal ou tumefação. Evidências apontam que o tamanho das glândulas pode estar relacionado com o consumo de mais e maiores presas que contêm alcaloides. Porém essa relação não foi avaliada. Este trabalho visa avaliar a relação do tamanho da glândula frontal e a dieta de *M. cambaraensis* e também, descrever a dieta da espécie. Foram capturados 48 indivíduos na Floresta Nacional de São Francisco de Paula, sendo os conteúdos estomacais obtidos por lavagem estomacal e identificados até nível de ordem. Para medição da glândula foram capturadas fotografias em posições padronizadas e medidas posteriormente no programa ImageJ. As relações entre o tamanho da glândula e os itens consumidos foram avaliadas por regressão linear. Diferenças na dieta entre fêmeas e machos foram testadas via análise de variância. Não foram evidenciadas relações entre a quantidade de presas e o volume, área e comprimento da glândula frontal, levando em consideração que *M. cambaraensis* sequestre e estoque mais alcaloides conforme ingira mais presas.. Não foi encontrada relação entre o tamanho da glândula e o tamanho dos indivíduos. Isto pode ter ocorrido devido ao fato de que nossa avaliação pode não ter abrangido o tempo de sequestro necessário para o crescimento imediato da glândula frontal. O volume e tamanho das presas podem ser as variações que mais expliquem o tamanho da glândula, presas maiores podem ter mais alcaloides. Fêmeas e machos não apresentam diferenças significativas nas dimensões das glândulas, possivelmente por sequestrarem alcaloides de forma semelhante e possuírem uma dieta parecida, apesar de significativamente diferente, onde ácaros e formigas foram os itens mais consumidos. Dentre os 48 indivíduos capturados, oito estavam sem conteúdo alimentar, enquanto os demais apresentaram 19 classes de artrópodes. Em média, os indivíduos machos contêm 27,94 itens alimentares e as fêmeas 43,75 . Os mais representativos foram Hymenoptera - formigas (390), Acari (207) e Miriapoda (183). A frequência de ocorrência (%) de Hymenoptera – formiga, Myriapoda e Aranae foi maior em fêmeas (80, 50, 60) do que em machos (79, 34, 34). Outras relações e/ou padrões possíveis em relação à variação da morfologia e a dieta, como avaliação do volume das presas, análise de indivíduos recapturados, realização de experimentos com adultos e jovens, devem ser testadas.

Palavras-chave: Ecologia Alimentar; alcaloides; Tumefação; Mata Atlântica; Anfíbios.

ABSTRACT

Diet is one of the components of the natural history of organisms that provide knowledge about its habitat relations, interactions with other organisms and about defensive alkaloid uptake in alkaloid containing amphibians. The south American red belly toads of genus *Melanophryniscus* sequester those compounds from mites and ants and stock in skin glands and, in some species, in a frontal gland or swelling. The size of the glands could be related with the consumption of more and bigger alkaloid containing prey. However this relations have never been evaluated. The aim of this work is test the relation of frontal gland size and the diet of *M. cambaraensis*, also describe the diet of this toad. Fourty eighth individuals was captured at Floresta Nacional de São Francisco de Paula that was applied the stomach flushing method to obtain diet itens identified until order. To measure the glands standardized photographs was taken and analyzed in ImageJ software. Relations between number of preyed itens and frontal gland size were tested with regression analyzes. Differences in diet of females and males were tested by analyses of variance. No relations were found, considering that *M. cambaraensis* uptakes and stocks more alkaloids as they eats more and larger prey. The relation of gland and individual size was not significant. This fact could be related with the time of alkaloid sequestration and storage in the gland. Probably an alkaloid are not immediately stocked, not rising the gland size. The main factor of the relation seems to be the volume and size of prey. Females and males did not presented differences on gland dimensions, probably they uptake alkaloids of the same way. The diet of both sexes are very similar of alkaloid containing arthropods (ants and mites) but significantly different when considering the other itens. Eight individuals presented empty stomach, in the others were identified 19 arthropods classes. Males ate in average 27, 94 and females 43,75 preys. Hymenoptera – ants (390), Acari (207) e Myriapods (183) were the most representative. The frequency of occurrence (%) of Hymenoptera – ants, Myriapods and Aranae were higher in females (80, 50, 60) than in males (79, 34, 34). Other variables must be tested to find other patterns and relations about glands morphology and toads diet, as well as prey volume, analyze recaptured individuals and develop experimental approaches.

Key-words: Food Ecology; alkaloids; Swelling; Atlantic forest; Amphibians.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1. AMOSTRAGENS DE ANFÍBIOS.....	13
2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	16
3. RESULTADOS	17
4. DISCUSSÃO	23
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

Os estudos da composição alimentar abrangem desde a listagem dos itens que uma espécie consome até as relações dos seus hábitos alimentares com o ambiente. As contribuições desses estudos auxiliam no entendimento de como e quais recursos alimentares estão sendo mais utilizados (MOREIRA & BARRETO, 1996) além de ampliar o conhecimento da história natural das espécies (WELLS, 1978), bem como sua história de vida, comportamento e até mesmo, história evolutiva (TOFT, 1995).

A dieta dos vertebrados é variável, observando-se a diferença em relação a idade, sexo, entre espécies e sazonalmente (POUGH *et al*, 2008). A seleção das presas pode ser realizada em função de fatores extrínsecos como a abundância do alimento e/ou a presença de competidores (DUELLMAN & TRUEB, 1984), além de ser influenciada por variações sazonais na disponibilidade dos alimentos (HILL, 1997). Para algumas espécies de anfíbios, como a rã-venenosa, *Oophaga (Dendrobates) pumilio*, é observado consumo de presas com menor volume nos períodos de seca e com maior volume na transição entre período de seca e úmido (WHITFIELD & DONNELLY, 2006). Outras espécies apresentam mudanças na dieta conforme variação dos índices de pluviosidade (TOFT, 1980^b). Para a dieta e os hábitos alimentares de anfíbios, além da abundância de presas, também deve ser levada em consideração as restrições de tamanho e as tolerâncias ecológicas de cada espécie (DUELLMAN & TRUEB, 1986).

Embora poucos estudos, há alguns que avaliam a influência da dieta sobre características morfológicas das espécies (ARNOLD, 2010; PASSOS, 2018). Dentre as descobertas sobre essas relações, devem ser ressaltados estudos como de um passarinho, o chapim-azul, o qual foi identificado que através da alimentação de lagartas o padrão de disponibilidade e aquisição de antioxidantes, influencia na qualidade dos sinais coloridos proporcionados pelos carotenoides presentes no invertebrado (ARNOLD, 2010). Quando analisadas jararacas em cativeiro, foi observado que serpentes que tiveram camundongos como componentes da dieta aumentaram o crescimento e a maturidade sexual (PASSOS, 2018). Em jararacas com engodo caudal na fase juvenil, a partir do

momento que começam a mudar a dieta para animais de sangue quente a morfologia da cauda muda à medida que crescem (SAZIMA, 1991).

Dentre essas possíveis relações entre dieta e atributos morfológicos, destacam-se os anfíbios que sequestram alcaloides de itens que consomem e estocam em glândulas de veneno. O sapo dendrobatídeo que contem alcaloides, *Oophaga pumilio* estoca esses alcaloides em glândulas espalhadas pela pele, que crescem em uma taxa ainda maior que o crescimento do corpo (SAPORITO, *et al.*, 2010). Supõe-se que essa mudança esteja relacionada a mudança na dieta para presas maiores que teriam mais alcaloides como ácaros e formigas (DONNELLY, 1991; LIMA & MOREIRA, 1993; LIMA & MAGNUSSON, 2000; SAPORITO *et al.*, 2010). Outra linhagem de anfíbios que sequestram alcaloides supostamente de ácaros, formigas, besouros e outros artrópodes, são os sapinhos-de-barriga-vermelha do gênero *Melanophryniscus* (MEBS *et al.*, 2005; BONANSEA & VAIRA, 2007; DALY *et al.*, 2007; DALY *et al.* 2008). Esses sapos além de estocarem esses compostos nas glândulas espalhadas pelo corpo acumulam alcaloides em uma glândula frontal, a tumefação (NAYA *et al.*, 2012). A presença dessa glândula é considerada uma sinapomorfia entre um grupo de espécies dentro desse gênero, o grupo *tumifrons* (BALDO & BASSO, 2004). Tendo em vista a posição da glândula (acima do focinho e na cabeça) e da quantidade de glândulas granulares que a compõem, é possível que essa estrutura tenha função defensiva (NAYA *et al.*, 2004), principalmente contra predadores que orientam as presas pela cabeça como muitas serpentes (PINTO & LEMA, 2002).

A tumefação é evidente nos indivíduos adultos, enquanto nos juvenis parece ser ausente ou inconspícua (CAORSI *et al.*, 2014). A glândula frontal pode crescer à medida que os indivíduos jovens crescem e vão acumulando os alcaloides que sequestram (CAORSI *et al.*, 2014) assim como acontece com *O. pumilio* (SAPORITO *et al.*, 2009). Sabe-se que indivíduos “mais velhos” contem mais alcaloides do que indivíduos “mais jovens” supostamente por predarem presas maiores e com mais quantidade de alcaloides conforme vão crescendo (JECKEL *et al.*, 2015). Porém essa relação entre a dieta e o crescimento e/ou tamanho das glândulas ainda não foi avaliada.

O objetivo desse trabalho é avaliar a relação do tamanho da glândula frontal com a dieta e com o comprimento rostro-cloacal do sapinho-de-barriga-vermelha *Melanophrhyniscus cambaraensis*, bem como descrever a dieta da espécie. Nossa hipótese é que a glândula frontal tenha tamanho maior em indivíduos que consomem maior quantidade de presas e em indivíduos de maior tamanho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

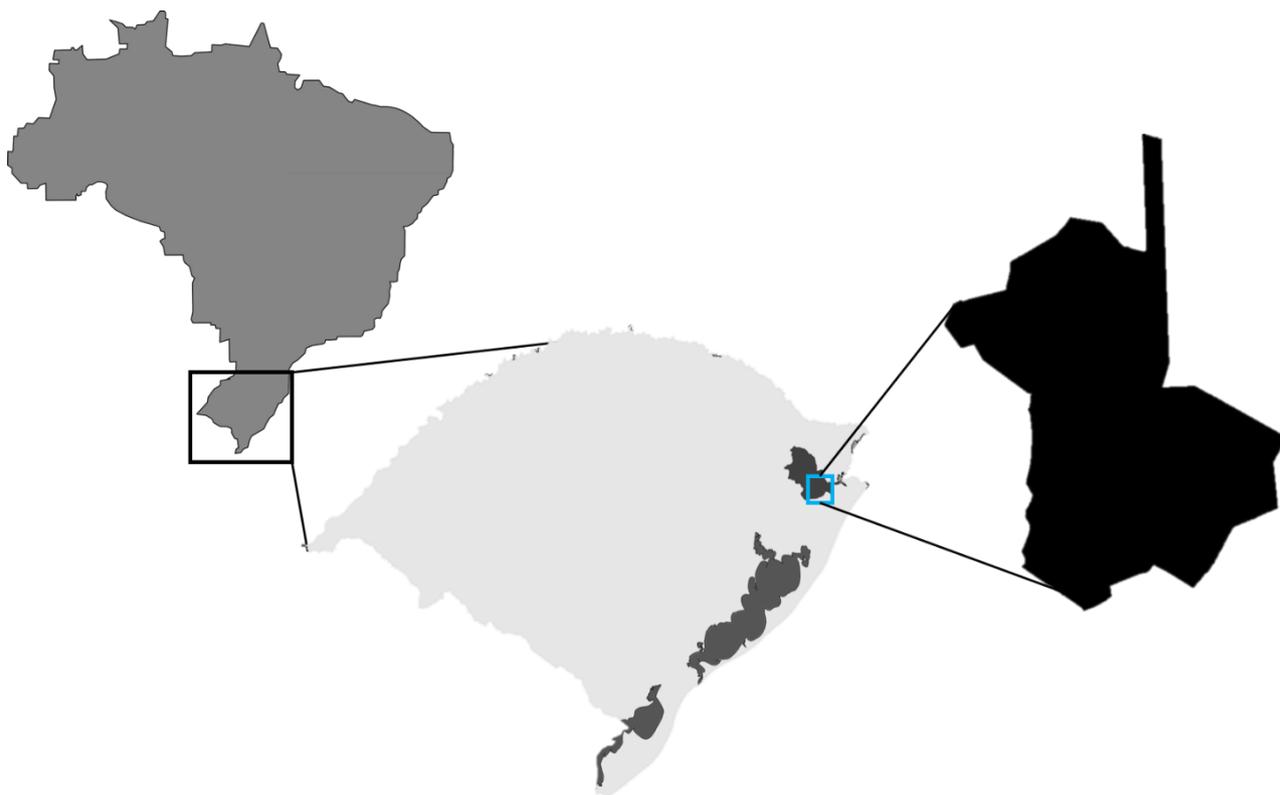
2.1. AMOSTRAGENS DE ANFÍBIOS

Os 48 indivíduos analisados são provenientes da Floresta Nacional de São Francisco de Paula (FLONA), região da floresta ombrófila mista no Rio Grande do Sul (Figura 1). A FLONA é caracterizada por um mosaico de floresta ombrófila mista plantios de pinus, araucária e eucalipto (CAORSI *et al.*, 2011). Possui alta pluviosidade, com médias aproximadas de 200 mm durante todos os meses do ano (BURIOL *et al.*, 2009). Desses 38 foram machos, identificados pela presença da excrescência nupcial, pela emissão do canto de soltura e pela vocalização de anúncio, e dez foram fêmeas (caracteres ausentes). Os sapinhos foram capturados manualmente em um sítio reprodutivo localizado em área com plantio de araucária (Figura 2) durante evento reprodutivo em agosto de 2018.

2.2. OBTENÇÃO DOS CONTEÚDOS ESTOMACAIS

Os conteúdos estomacais foram obtidos através do método de lavagem estomacal seguindo o protocolo de Solé (2005), onde não há necessidade da eutanásia dos sapos para a aquisição do conteúdo. Os alimentos ingeridos foram coletados por indução de regurgito, com a inserção, de forma delicada, de uma sonda plástica, até que esta chegue ao conteúdo estomacal. Neste momento foi injetada água pela sonda, devagar, até o animal regurgitar. O conteúdo foi depositado em microtubo de 2 mL e fixado em álcool 70%. Posteriormente, em laboratório, foi triado com auxílio de estereomicroscópio e o analisado até o menor nível taxonômico possível. Após a captura e lavagem os sapos foram devolvidos no local de coleta. Os indivíduos capturados foram medidos (comprimento rostro-cloacal – CRC), pesados e fotografados em posições padronizadas para posterior tomada das medidas da glândula frontal.

Figura 1 - Localização do município de São Francisco de Paula e da Floresta Nacional de São Francisco de Paula (limite destacado a direita) ($29^{\circ} 25'22,4''S$; $50^{\circ} 23'11,2''W$).



Fonte: Autores, 2018

Figura 2 - Vista geral do sitio de reprodução do sapinho-de-barriga-vermelha, *Melanophryniscus cambaraensis*, localizado em área de plantio de araucária na Floresta Nacional de São Francisco de Paula. A área pontilhada corresponde ao local onde os indivíduos foram capturados.

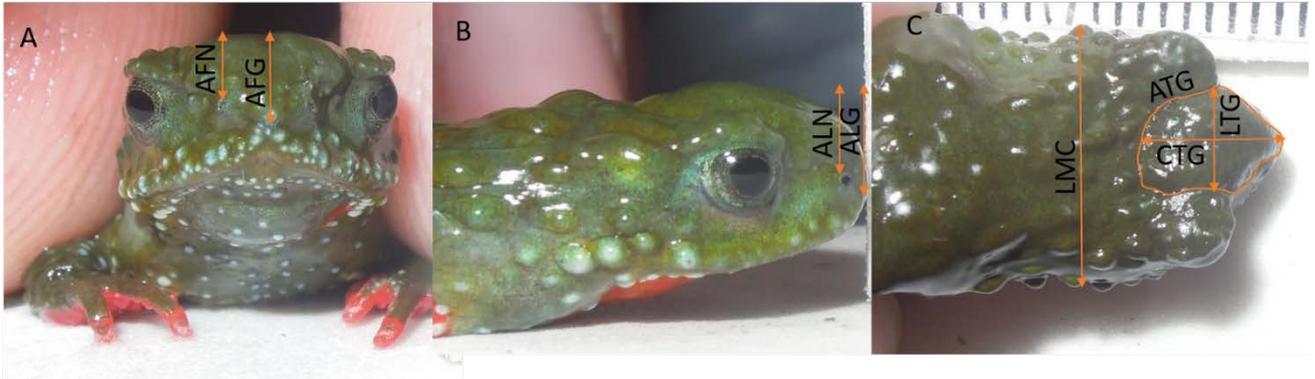


Fonte: Autor, 2018

2.3. VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS

As dimensões da glândula foram tomadas com auxílio do programa ImageJ. Foram capturadas três fotografias em posições diferentes, para obtenção das seguintes variáveis: altura frontal em relação à narina (AFN); altura frontal em relação ao fim da glândula (AFG); comprimento da glândula (CTG); largura da glândula (LTG), área da glândula (ATG); largura máxima da cabeça (LMC); altura lateral em relação à narina (ALN) e altura lateral em relação ao fim da glândula (ALF) (Figura 3).

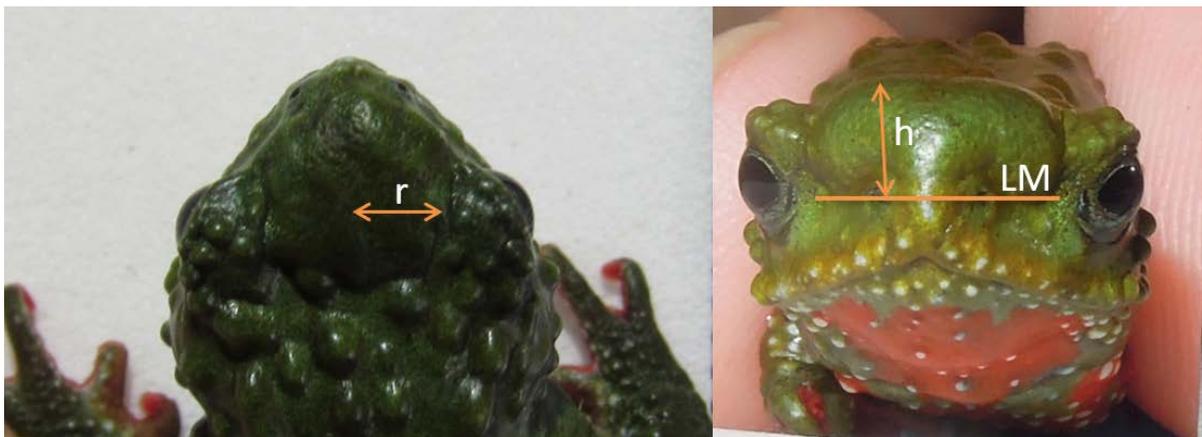
Figura 3 Posição dos sapos para fotografia usada nas medições pelo *ImageJ*. (A) AFN: altura frontal em relação à narina; AFG; altura frontal em relação à glândula. (B) ALN: altura lateral em relação à narina; ALG: altura lateral em relação à glândula. (C) LMC: largura máxima da cabeça; CTG: comprimento total da glândula; LTG: largura total da glândula; ATG: área total da glândula.



Fonte: Autores, 2018

Para obtenção do volume da glândula frontal foi usada a fórmula de cálculo do volume de calota esférica: $\frac{\pi * h}{6} * (3 * r^2 * h^2)$, assumindo essa forma geométrica como a mais próxima da forma da glândula. Onde r foi considerado a metade do comprimento total da glândula (CTG) e o h, considerado a partir da medida de altura frontal pelo limite médio da glândula (Figura 4).

Figura 4 - Representação da medida de raio (r) e altura (h), esta com base no Limite médio da glândula (LM) para uso no cálculo de volume da glândula.



Fonte: Autores, 2018

2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para testarmos a relação entre a área e o volume da glândula, com o número de itens consumidos, foi realizada uma análise de regressão linear,

considerando o número de itens como variável independente (preditora) e as duas dimensões da glândula, a área e o volume, como variáveis dependentes (resposta). Para testar a relação entre o comprimento rostro-cloacal (preditora) e volume e área da glândula (resposta), foi realizada uma análise de regressão linear. As regressões foram executadas no programa PAST 2.17c (HAMMER et al. 2001).

Para testar as diferenças das variáveis morfológicas (área, comprimento e volume da glândula) e da dieta entre machos e fêmeas foi realizada análise de variância (ANOVA) via teste de aleatorização com 10.000 aleatorizações. As comparações entre as variáveis morfológicas de fêmeas e machos basearam-se em uma matriz de semelhança através do índice de Gower (considera variáveis com diferentes escalas). Para as comparações entre a dieta de fêmeas e machos a matriz foi construída através de distância Euclidiana. Essa análise foi rodada no programa Multiv 3.31b (Pillar 2006). Para todas as análises foi considerado um nível de significância (p) maior ou igual a 0,05.

3. RESULTADOS

A análise de regressão não indicou relação entre a quantidade de presas e o volume ($R^2 = 0,281$ e $p = 0,300$) e a área da glândula ($R^2 = 0,029$ e $p = 0,277$) (Figura 5). Também não foi evidenciado a relação entre o CRC dos indivíduos e o volume ($R^2 = 0,039$; $p = 0,176$), a área ($R^2 = 0,006$; $p = 0,592$) e o comprimento da glândula ($R^2 = 0,036$ e $p = 0,197$) (Figura 6).

As variáveis da glândula (volume, área e comprimento) também não diferiram entre fêmeas e machos ($p = 0,742$) (Tabela 1).

Em relação a dieta, oito indivíduos (seis machos e duas fêmeas) se encontravam com o estômago vazio, enquanto que os demais (32 machos e oito fêmeas) consumiram 19 classes de presas diferentes (Tabela 2). Em média, os indivíduos apresentaram 31,1 itens por estômago, sendo 43,7 para fêmeas e 27,9 para machos.

Dentre os itens encontrados, as classes mais representativas foram Hymenoptera - formigas (390), Acari (207), Miriapoda (183), Collembola (162), larvas (143) e Aranae (42) (Figura 6). A frequência de ocorrência (FO%) de Hymenoptera – formiga, Myriapoda e Aranae foi maior em fêmeas (80, 50, 60, respectivamente) do que em machos (79, 34, 34) (Tabela 2). A frequência de

ocorrência de Hymenoptera – formigas, Myriapoda e Aranae foi mais baixa em machos, porém a abundância dos mesmos foi mais alta (286, 162, 22) do que para as fêmeas (104, 21, 20). Collembola apresentou menor FO% para fêmeas (60) do que para machos (63) enquanto a abundância foi significativamente maior para fêmeas (99) do que para machos (63). As outras categorias foram pouco abundantes sendo que Lepidoptera, Lagartas, Díptera, Amphipoda e Isopoda foram consumidos apenas por fêmeas, enquanto que apenas machos consumiram Mantodea, Thysanoptera e Pseudoescorpiones.

Fêmeas e machos apresentaram diferença significativa na dieta ($p=0,048$). Essa diferença está relacionada ao fato das fêmeas terem consumido maior abundância de Collembola e possuírem frequência ocorrência (%) maior para Hymenoptera – Formigas, Myriapoda e Aranae.

Figura 5 - Relação entre volume (em cima) e a área (em baixo) da glândula frontal, e o total de itens consumidos (número de presas) por cada indivíduo (em cima). Ao lado direito dos gráficos o valor do R^2 da regressão e o valor de p .

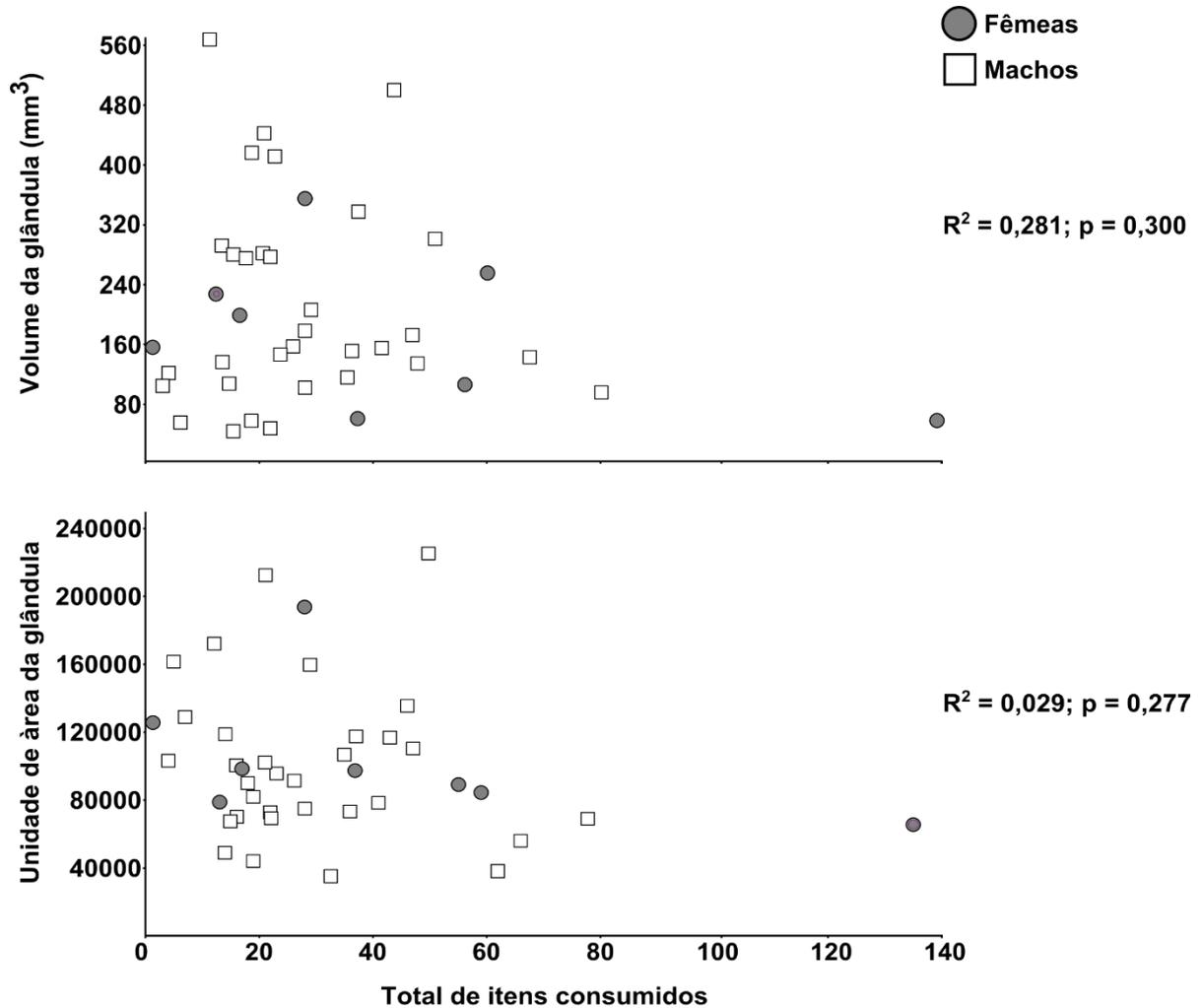
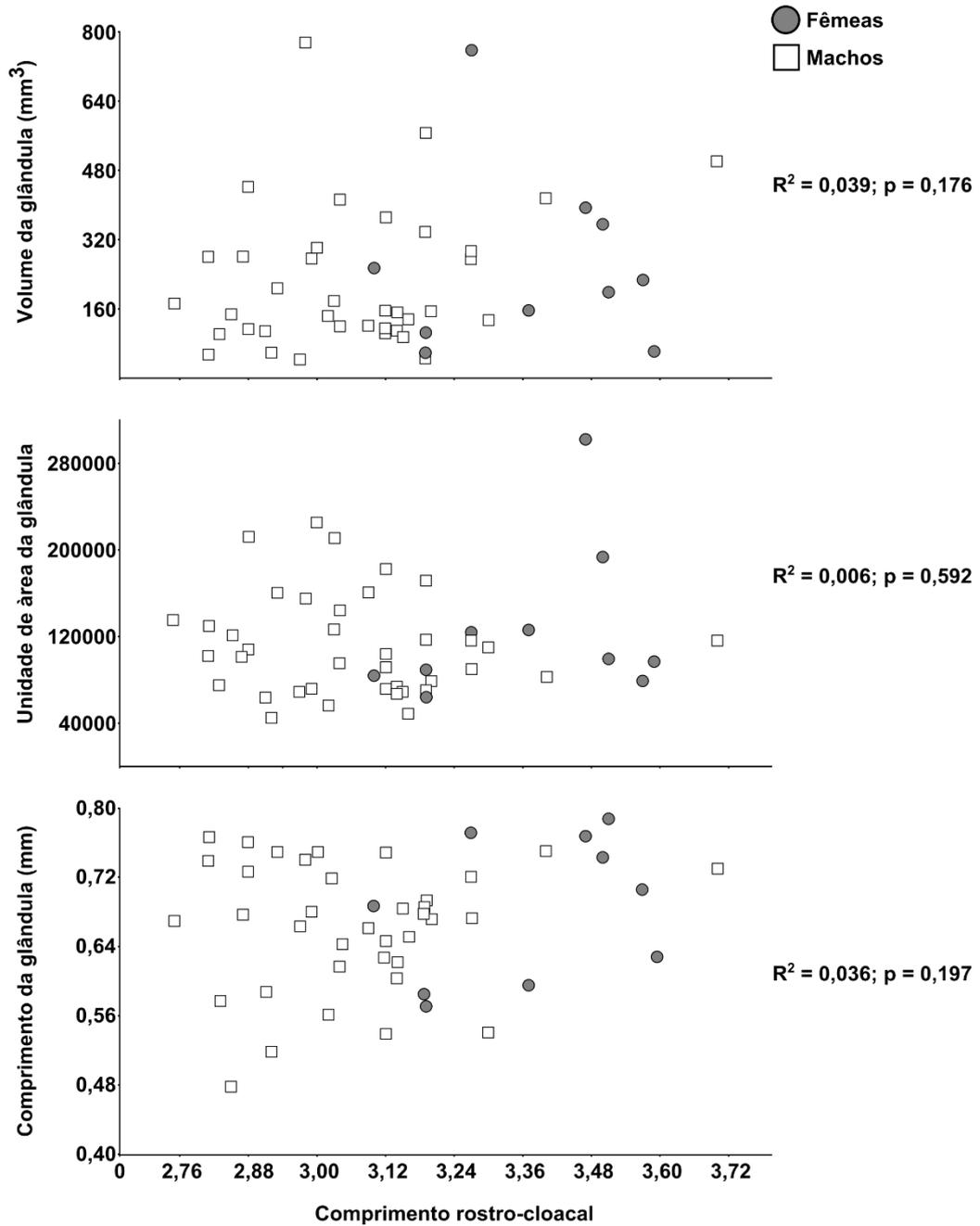


Figura 6 - Relação entre o volume (mm^3) (em cima), a área (unidades de área) (no meio) e o comprimento da glândula (mm) (em baixo) com o comprimento rostro-cloacal (mm). Ao lado direito dos gráficos o valor do R^2 da regressão e o valor de p.



Fonte - Autores, 2018

Tabela 1 Valores médios de quatro variáveis morfológicas de indivíduos fêmeas e machos de sapinhos-de-barriga-vermelha, *Melanophrynisucs cambarensis*. Onde, CRC – comprimento rostro-cloacal; ATG – área total da glândula, V – volume da glândula e CTG – comprimento total da glândula. Os valores entre parênteses indicam o desvio padrão.

	CRC (mm)	ATG (unidade de área)	V (mm ³)	CTG (mm)
Fêmeas (N)	3,38 (0,18)	125931 (71810)	256,87 (208,68)	0,68 (0,08)
Machos (N)	3,06 (0,19)	108562 (44328)	224,14 (163,67)	0,66 (0,07)

Fonte: Autores, 2018

Tabela 2 Dieta do sapinho-de-barriga-vermelha, *Melanophryniscus cambaraensis* na Floresta Nacional de São Francisco de Paula. Estão apresentados os itens consumidos por machos (M) e fêmeas (F), onde N representa a abundância dos itens consumidos e FO%, a frequência de ocorrência de cada item.

	N		MEDIA (DP)		FO%		
	T	M	F	T	F	M	
Hymenoptera - Formiga	390	8,2 (8,7)	11,4 (11,5)	79	80	79	
Acari	207	4,3 (4,4)	4,5 (4,5)	73	60	76	
Myriapoda	183	4,3 (9,5)	2,1 (2,9)	38	50	34	
Collembola	162	1,7 (1,7)	9,9 (23,1)	63	60	63	
Larva	143	3,1 (4,7)	2,7 (5,0)	69	40	76	
Araneae	42	0,6 (0,9)	2 (2,7)	40	60	34	
Hemiptera - Afídio	17	0,4 (0,8)	0,3 (0,7)	23	20	24	
Coleoptera	10	0,2 (0,5)	0,1 (0,3)	19	10	21	
Gastropoda	7	0,1 (0,4)	0,2 (0,6)	10	10	11	
Lepidoptera	4	0 (0)	0,4 (1,3)	2	10	0	
Lagarta	4	0 (0)	0,4 (1,0)	4	20	0	
Hymenoptera - Vespa	4	0,1 (0,3)	0,1 (0,3)	8	10	8	
Thysanoptera	2	0,1 (0,2)	0 (0)	4	0	5	
Diptera	1	0 (0)	0,1 (0,3)	2	10	0	
Mantodea	1	0 (0,2)	0 (0)	2	0	3	
Amphipoda	1	0 (0)	0,1 (0,3)	2	10	0	
Isopoda	1	0 (0)	0,1 (0,3)	2	10	0	
Pseudoescorpiones	1	0 (0,2)	0 (0)	2	0	3	
N.I	28	0,6 (0,9)	0,6 (1,3)	38	30	39	

Fonte: Autores, 2018

4. DISCUSSÃO

As evidências encontradas apontam que não há relação entre a quantidade de presas com o tamanho da glândula frontal nos indivíduos, considerando que *Melanophryniscus cambaraensis* sequestre e estoque mais alcaloides conforme consoma uma quantidade maior de presas. Nas espécies de sapos que sequestram alcaloides essa relação da quantidade de veneno (em função do tamanho e quantidade das presas) e consequente aumento no tamanho das glândulas ainda não foi testada. Sabe-se que a diversidade de presas que consomem está associada à diversidade de alcaloides (DALY *et al.*, 2008; SAPORITO *et al.*, 2007) mas pode não estar ligada à quantidade de alcaloides sequestrados. Um estudo experimental com *Melanophryniscus stelzneri* demonstrou que existem diferenças de sequestro de determinados alcaloides (HANTAK *et al.* 2013), corroborando o fato de que a diversidade pode não estar ligada à quantidade. Portanto, se o estoque acontece na glândula seu tamanho poderia não ter relação direta com a quantidade de presas.

O volume e tamanho das presas podem ser as variáveis que mais expliquem o tamanho da glândula, justamente porque presas maiores podem ter mais alcaloides. Indivíduos imaturos do ácaro *Scheloribates laevigatus*, item alimentar de algumas espécies de sapos que sequestram alcaloides, não possuem tais substâncias (SAPORITO *et al.*, 2011). Possivelmente indivíduos menores de ácaros dessa espécie tenham menos alcaloides, sendo o que poderia ser esperado para outros artrópodes que contem alcaloides.

O sequestro e o estoque de alcaloides podem não ocorrer logo após a ingestão da presa, não acarretando o aumento imediato do tamanho da glândula. As informações disponíveis apontam que o acúmulo dessas substâncias aconteça ao longo do desenvolvimento e crescimento dos indivíduos (JECKEL *et al.* 2015; SAPORITO *et al.*, 2010; CAORSI *et al.*, 2014). Supõe-se que, à medida que consomem presas maiores e em maior quantidade há mais sequestro e estoque e, portanto, maior crescimento das glândulas (SAPORITO *et al.*, 2010; CAORSI *et al.*, 2014). Porém não há informações sobre o tempo de sequestro de um alcaloide.

Outra relação que não foi encontrada foi a do comprimento dos indivíduos (CRC) com o tamanho (volume, área e comprimento) da glândula frontal.

Esperava-se que indivíduos maiores apresentassem glândulas frontais maiores o que não ocorreu. No dendrobatídeo, *Oophaga pumilio*, existe relação alométrica positiva entre o diâmetro das glândulas de veneno e o tamanho corporal (SAPORITO *et al.*, 2010). Durante o crescimento dos indivíduos, as glândulas crescem a medida que o tamanho corporal aumenta, ou seja, indivíduos pequenos tendem a ter glândulas de veneno menores e, por sua vez, menos quantidade de veneno estocado (SAPORITO *et al.*, 2010). Mais uma vez nossa avaliação pode não ter abrangido o tempo de sequestro necessário para o crescimento imediato da glândula frontal. Outra hipótese é a de que a glândula tenha uma capacidade de estoque, portanto os alcaloides seriam armazenados até um limite específico. Capacidades individuais de sequestro demonstrariam que este tamanho depende da quantidade individual de sequestro de cada espécime. Variações individuais na composição dos alcaloides são demonstradas em dendrobatídeos, mantelídeos e outras espécies de *Melanophryniscus* (SAPORITO *et al.*, 2006; CLARK *et al.*, 2006, DALY *et al.*, 2007).

Fêmeas e machos não apresentaram diferenças significativas nas dimensões da glândula, possivelmente por sequestrarem e estocarem alcaloides de maneira semelhante. Um aspecto que evidenciaria essa semelhança é que a dieta de ambos os sexos, são parecidas pelo menos em termos de presas que contem alcaloides como ácaros e formigas (SAPORITO *et al.*, 2009).

A dieta de *Melanophryniscus cambaraensis*, coincide com a dieta das demais espécies do gênero (BORTOLINI, 2013; BOKERMAN, 1967; FILIPELLO E CRESPO, 1994; BONANSEA & VAIRA, 2007; DALY *et al.*, 2008; BORTOLINI, 2013; DURÉ & KEHR, 2006; DURÉ & KEHR, 1999). Em *M. stelzneri* e *M. devincenzii* não houve diferença na dieta entre machos e fêmeas (FILIPELLO E CRESPO, 1994; BORTOLINI, 2013), assim como foi encontrado para *M. cambaraensis* pelo menos em relação as presas que supostamente contem alcaloides. Neste estudo, houve diferença, onde fêmeas consomem mais frequentemente Hymenoptera – Formigas, Myriapoda e Aranae e maior abundância de Hymenoptera – formigas e Hemiptera – afídeo do que machos. Quando em período reprodutivo, fêmeas consomem presas maiores e mais numerosas

(BIAVATI *et al.*, 2004). Com isso, pode haver relação entre energia proveniente, tamanho e quantidade das presas com a produção dos ovos (DONNELLY, 1991).

Para busca de outras relações e/ou padrões possíveis em relação a variação da morfologia e a dieta, ainda são necessárias avaliações do volume das presas, aplicar o método de lavagem em eventuais indivíduos provenientes de recaptura, realizar abordagens experimentais com adultos e avaliar a ontogenia em relação ao crescimento da macroglândula.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para as relações ontogenéticas entre tamanho da glândula e composição da dieta não foram encontrados resultados significativos, podendo então sugerir que outros parâmetros, não analisados, devam influenciar mais diretamente, como é o caso do volume das presas. Além disso, seria importante estudar acerca de diferentes fases do ciclo dos indivíduos, para conseguir relacionar e comparar os atributos morfológicos aos fatores extrínsecos e também com a composição da dieta.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, C. & DONATTI, L. **Dieta de duas espécies carnívoras simpátricas (Graxaim-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) e Quati *Nasua nasua* (Linnaeus, 1766) nos municípios de Tijucas do Sul e Agudos do Sul, estado do Paraná.** Paraná, 2007. 54 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Mestrado em Ecologia e Conservação, 2007.
- ARNOLD, K. E.; RAMSAY, S. L.; HENDERSON, L.; LARCOMBE, S. D. **Seasonal variation in diet quality: antioxidants, invertebrates and blue tits *Cyanistes caeruleus*.** Biological Journal of the Linnean Society, v. 99, pp. 708-717, 2010.
- ARRUDA, V. M.; ALVESJR, V. V.; MORAES, M. M. B.; NETTO, J. C.; SUÁREZ, Y. R. **Análise morfológica da glândula de veneno de *Apis mellífera* L. (Hymenoptera: Apidae) em populações de Mato Grosso do Sul.** Neotropical entomology, v.36, n.2, p.203-209, mar/abr. 2007.
- BALDO, D. & BASSO, N. G. **A new species of *Melanophryniscus* Gallardo, 1961 (Anura: Bufonidae), with comments on the species of the genus reported for Missones, Northeastern Argentina.** Journal of Herpetology, v.38, n.3, p.393-403, 2004.
- BECK, C. A.; IVERSON, S. J.; BOWEN, W. D.; BLANCHARD, W. **Sex differences in grey seal diet reflect seasonal variation in foraging behavior and reproductive expenditure: evidence from quantitative fatty acid signature analysis.** Journal of Animal Ecology, v. 76, pp. 490-502, 2007.
- BIAVATI, G. M.; WIEDERHECKER, H. C.; COLLI, G. R. **Diet of *Epipedobates flavopictus* (Anura: Dendrobatidae) in a Neotropical Savanna.** Journal of Herpetology, v. 38, n. 4, pp. 510-518, 2004.
- BOKERMANN, W. C. A. **Girinos de anfíbios brasileiros – 4 (Amphibia, Salientia).** Revista brasileira biológica, v.27, v.4, p.363-367, Rio de Janeiro, 1967.
- BONANSEA, M. I. & VAIRA, M. **Geographic variation of the diet of *Melanophryniscus rubiventris* (Anura: bufonidae) in Northwestern Argentina.** Journal of Herpetology, v.41, v.2, p.231-236, 2007.
- BORTOLINI, S. V., MANEYRO, R., COPPES, F. A., ZANELLA, N. **Diet of *Melanophryniscus devincenzii* (Anura: Bufonidae) from Parque Municipal de Sertão, Rio Grande do Sul, Brazil.** Herpetological Journal, v.23, p.115-119, 2013.

BURIOL, G. A.; ESTEFANEL, V.; GRACIOLI, M. S. A.; CHAGAS, A. C.; FONTINELI, D. C. **Climatic zoning of conditions for the development of the larva of the mosquito that transmits the dengue fever virus in the State of Rio Grande do Sul.** Eletronic Journal of Communication, Information & Inovation in Health, v. 3, pp. 24-36, 2009.

CAORSI, V. Z.; COLOMBO, P.; FREIRE, M. D.; AMARAL, I. B.; ZANK, C.; BORGES-MARTINS, M.; GRANT, T. **Natural history, coloration pattern and conservation status of the threatened South Brazilian red bellied toad, *Melanophryniscus macrogranulosus* Braun, 1973 (Anura, Bufonidae).** Herpetology notes, v.7, p.585-598, 2014.

CLARK, V. C.; RAKOTOMALALA, V.; RAMILJAONA, O.; ABRELL, L.; FISHER, B. L. **Individual variation in alkaloid content of poison frogs of Madagascar (*Mantella*; Mantellidae).** Journal Chemical ecology, jun. 2006.

DALY, J. W.; MYERS, C. W.; WARNICK, J. E.; ABUQUERQUE, E. X. **Levels of batrachotoxin and lack of sensitivity to its action in poison-dart frogs (*Phyllobates*).** Science, v. 208, n. 1383, 1980.

DALY, J. W.; GARRAFFO, H. M.; SPANDE, T. F.; YEH, J. J. C.; PELTZER, P. M.; CACIVIO, P. M.; BALDO, J. D.; FAIVOVICH, J. **Indolizidine 239Q and quinolizidine 275I. Major alkaloids in two Argentinian bufonid toads (*Melanophryniscus*).** Toxicon, v.2, p.858-870, 2008.

DALY, J. W.; WILHAM, J. M.; SPANDE, T. F.; GARRAFFO, H. M.; GILL, R. R.; SILVA, G. L.; VAIRA, M. **Alkaloids in Bufonid toads (*Melanophryniscus*): temporal and geographic determinants for two Argentinian species.** Chemical Ecology, v.33, p.871-887, 2007.

DONNELLY, M. A. **Feeding patterns of the strawberry poison frog, *Dendrobates pumilio* (Anura: Dendrobatidae).** Copeia, v. 3, pp. 723-730, 1991.

DUELLMAN, E. W. & TRUEB, L. **Biology of amphibians.** 2 ed. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1994.

DURÉ, M. I. & KEHR, A. I. **Explotación diferencial de los recursos tróficos em cuatro espécies de bufonidos del Nordeste Argentino.** Actas Ciencia & Técnica, v.6, p.17-20, 1999.

- DURÉ, M. I. & KEHR, A. I. ***Melanophryniscus cupreuscapularis* diet.** Herpetological review, v. 37, n. 3. 2006.
- FILIPELLO, A. M. & CRESPO, F. A. **Alimentación em *Melanophryniscus stelzneri* (Anura: bufonidae).** Cuadernos de herpetología, v.8, n.1, p.18-24, 1994.
- GARCIA-BERTHOU, E. & MORENO-AMICH, R. **Food of introduced pumpkinseed sunfish: ontogenetic diet shift and seasonal variation.** Journal of fish biology, v. 57, pp. 29-40, 2000.
- GIARETTA, A. A.; ARAUJO, M. S.; MEDEIROS, H. F.; FACURE, K. G. **Food habits and ontogenetic diet shifts of the litter dwelling frog *Proceratophrys boiei* (Wied).** Revista brasileira de zoologia, v.15, n.2, pp.385-388, 1998.
- HANTAK, M. M.; GRANT, T.; REINCSH, S.; MCGINNITY, D.; LORING, M.; TOYOOKA, N.; SAPORITO, R. A. **Dietary alkaloid sequestration in a poison frog: An experimental test of alkaloid uptake in *Melanophryniscus stelzneri* (Bufonidae).** Journal Chemical Ecology, v. 39, pp. 1400-1406, 2013.
- HILL, D. A. **Seasonal variation in the Feeding behavior and diet of Japanese Macaques (*Macaca fuscata yakui*) in Lowland Forest of Yakushima.** American Journal of Primatology, v. 43, pp. 305-322, 1997.
- HOFMANN, G. S.; COELHO, I. P.; BASTAZINI, V. A. G.; CORDEIRO, J. L. P.; de OLIVEIRA, L. F. B. **Implications of climatic seasonality on activity patterns and resource use by sympatric peccaries in northern Pantanal.** International Journal of Biometeorology, vol. 60, n.3, pp. 421-433, mar, 2016.
- LEONARDI, S. B.; COLOMBO, P.; SANTOS, R. R.; ZANK, C.; SCHOSSLER, M.; VERRASTRO, L. V. **Composição da dieta do sapinho-de-barriga-vermelha *Melanophryniscus simplex* (Anura, Bufonidae) no Sul do Brasil.** In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 20., 2008, Porto Alegre. Livro de resumos, Porto Alegre, 2008.
- LIMA, T. M. F.; BORGES-MARTINS, M. **Descrição da dieta de *Melanophryniscus admirabilis* (Anura: Bufonidae).** 2014. 18 f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de biociências, 2014. Porto Alegre.
- LIMA, A. P. & MAGNUSSON, W. E. **Does foraging activity change with ontogeny? An assessment for six sympatric species of postmetamorphic**

litter anurans in central Amazonia. Journal Herpetology, v. 34, pp. 192-200, 2000.

LIMA, A. P. & MOREIRA, G. **Effects of prey size and foraging mode on the ontogenetic change in feeding niche of *Colostethus stepheni* (Anura: Dendrobatidae).** Oecologia, v. 95, pp. 93-102, 1993.

MEBS, D.; POGODA, W.; MANEYRO, R.; KWET, A. **Studies on the poisonous skin secretion of individual red bellied toads, *Melanophryniscus montevidensis* (Anura, Bufonidae), from Uruguay.** Toxicon, v. 46, pp. 641-650, 2005.

MOREIRA, G. & BARRETO, L. **Alimentação e variação sazonal na frequência de capturas de anuros em duas localidades do Brasil central.** Revista brasileira de zoologia, v. 13, n. 2, pp. 313-320, 1996.

MYERS, C. W. & DALY, J. W. **Preliminary evaluation of skin toxins and vocalizations in taxonomic and evolutionary studies of poison-dart frogs (Dendrobatidae).** Bulletin of the AMNH, v. 157, 1976.

MYERS, C. W.; DALY, J. W.; MALKIN, B. **A dangerously toxic new frog (*Phyllobates*) used by Emberá Indians of western Colombia, with discussion of blowgun fabrication and dart poisoning.** Bulletin of the American Museum of Natural History, v. 161, 1978.

NAYA, D. E.; LANGONE, J. A.; de SÁ, R. O. **Características histológicas de la tumefacción frontal de *Melanophryniscus* (Amphibia: Anura: Bufonidae).** Revista Chilena de Historia Natural, v. 77, pp. 593-598, 2004.

PASSOS, J. & SANTOS, S. M. A. **Influência no crescimento de *Bothrops insularis* e *Bothrops jararaca*: a dieta pode interferir no tamanho da maturidade sexual em cativeiro?** 2018. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2018. São Paulo.

PINTO, C. C. & LEMA, T. **Comportamento alimentar e dieta de serpentes, gêneros *Boiruna* e *Clelia* (Serpentes, Colubridae).** Iheringia, (Sér. Zool.), v. 92, n. 2, pp. 9-19, 2002.

POUGH, F.H., JANIS, C. M., HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados.** 4^a ed. Atheneu editora São Paulo Ltda, 2008. 705 p.

REED, H. D. **The poison glands of *Noturus* and *Schilbeodes***. The American naturalist, v. 41, n. 489, pp. 553-566, set. 1907.

SANTOS, R. R.; LEONARDI, S. B.; CAORSI, V. Z.; GRANT, T. **Directional orientation of migration in an seasonal explosive-breeding toad from Brazil**. Journal of tropical ecology, v. 26, pp. 415-421, 2010.

SAPORITO, R. A.; ISOLA, M.; MACCACHERO, V. C.; CONDON, K.; DONNELLY, M. A. **Ontogenetic scaling of poison glands in a dendrobatid poison frog**. Journal of zoology, v. 282, pp. 238-245, 2010.

SAPORITO, R. A.; SPANDE, T. F.; GARRAFFO, H. M.; DONNELLY, M. A. **Arthropod alkaloids in poison frogs: a review of the “dietary hypothesis”**. Heterocycles, v. 79, pp. 277-297, 2009.

SAPORITO, R. A.; DONNELLY, M. A.; GARRAFFO, H. M.; SPANDE, T. F.; DALY, J. W. **Geographic and seasonal variation in alkaloid-based chemical defenses of *Dendrobates pumilio* from Bocas del Toro, Panama**. Journal Chemical Ecology, v. 32, pp. 795-814, 2006.

SAZIMA, I. **Caudal luring in two neotropical Pitvipers, *Bothrops jararaca* and *B. jararacussu***. Copeia, v. 1, pp. 245-248, 1991.

SCHALK, C. M.; MONTAÑA, C. G.; KLEMISH, J. L.; WILD, E. R. **On the diet of the frogs of the Ceratophryidae: Synopsis and New Contributions**. South American Journal of Herpetology, v. 9, n. 2, pp. 90-105, 2014.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S. & ELICEIRI, K. W. **NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis**. Nature methods, v. 9, n.7, pp. 671-675, PMID [22930834](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22930834/) (on Google Scholar).

SILVA, E. T.; REIS, E. P.; FEIO, R. N.; RIBEIRO FILHO, O. P. **Diet of the Invasive frog *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) (Anura: Ranidae) in Viçosa, Minas Gerais State, Brazil**. South American Journal of Herpetology, v. 4, n. 3, pp. 286-294, 2009.

SOLÉ, M.; BECKMANN, O.; PELZ, B.; KWET, A.; ENGELS, W. **Stomach-flushing for diet analysis in anurans: an improved protocol evaluated in a case study in *Araucaria* forests, southern Brazil**. Neotropical fauna and environment, v. 40, n. 1, pp. 23-28, abr. 2005.

TOFT, C. A. **Feeding ecology of thirteen syntopic species of anurans in a seasonal tropical environment.** *Oecologia*, v. 45, pp. 131-141, 1980^a.

TOFT, C. A. **Seasonal Variation in Populations of Panamanian Litter Frogs and Their Prey: A Comparison of Wetter and Drier Sites.** *Oecologia*, v. 47, pp. 34-38, 1980^b.

WELLS, K. D. **Territoriality in the green frog (*Rana clamitans*): vocalizations and agonistic behavior.** *Animal behavior*, v. 26, pp. 1051-1063, 1978.

WHITFIELD, S. M. & DONNELLY, M. A. **Ontogenetic and seasonal variation in the diets of a Costa Rican leaf-litter herpetofauna.** *Journal of Tropical Ecology*, v. 22, pp. 409–417, 2006.

WOOLBRIGHT, L. L.; STEWART, M. M. **Foraging success of the tropical frog *Eleutherodactylus coqui*: the cost of calling.** *Copeia*, v. 1, pp. 69-75, 1987.