

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

Seleção de micro-habitat reprodutivo pela perereca-macaco *Pithecopus*
ayeaye (Anura, Hylidae, Phyllomedusinae)

Talita de Rezende Bueno

São João del-Rei

2024

Talita de Rezende Bueno

Seleção de micro-habitat reprodutivo pela perereca-macaco
Pithecopus ayeaye (Anura, Hylidae, Phyllomedusinae)

Orientador: Prof. Dr. Rafael Félix Magalhães

Coorientador: Prof. Dr. José Elvino Nascimento Jr.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal de São João del-Rei, como requisito parcial à obtenção do título de mestre. A dissertação foi formatada seguindo as regras do periódico *Ethology Ecology & Evolution*, com modificações.

São João del-Rei

2024

Nome: Talita de Rezende Bueno

Título: Seleção de micro-habitat reprodutivo pela perereca-macaco *Pithecopus ayeaye*
(Anura, Hylidae, Phyllomedusinae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal de São João del-Rei, como requisito parcial à obtenção do título de mestre. A dissertação foi formatada seguindo as regras do periódico *Ethology Ecology & Evolution*, com modificações.

Aprovado em: 06 de Setembro de 2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Rafael Félix Magalhães (Orientador)

Universidade Federal de São João del-Rei - UFSJ

Prof. Dra. Cynthia Peralta de Almeida Prado (Membro titular)

Universidade Estadual Paulista - UNESP

Prof. Dr. Paulo Sérgio Minatel Gonella Silva (Membro titular)

Universidade Estadual Paulista - UNESP

Prof. Dr. Renato Christensen Nali (Membro titular)

Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 7/2024 - PGE (13.08)

Nº do Protocolo: 23122.030627/2024-90

São João del-Rei-MG, 24 de setembro de 2024.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI / UFSJ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA / PGE



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL - REI / UFSJ

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO - M.Sc.

Aos seis dias do mês de setembro do ano de dois mil e vinte e quatro, às 13h30min, na Universidade Federal de São João del-Rei, instalou-se a banca examinadora de dissertação de mestrado da aluna Talita de Rezende Bueno. A banca examinadora foi composta pela professora Dra. Cynthia Peralta de Almeida Prado, UNESP, examinadora externa; Professor Dr. Renato Christensen Nali, UFJF, examinador externo; Professor Dr. Paulo Sergio Minatel Gonella Silva, UNESP, examinador interno; e pelo professor Dr. Rafael Félix de Magalhães, UFSJ, orientador. Deu-se início a abertura dos trabalhos, por parte do professor Rafael Félix de Magalhães, que, após apresentar os membros da banca examinadora e esclarecer a tramitação da defesa, solicitou à candidata que iniciasse a apresentação da dissertação, intitulada "**Seleção de micro-habitat reprodutivo pela perereca-macaco *Pithecopus ayeaye* (Anura, Hylidae, Phyllomedusinae)**", marcando um tempo de cinquenta minutos para a apresentação. Concluída a exposição, o Prof. Rafael Félix de Magalhães, presidente, passou a palavra à examinadora externa, professora Cynthia Peralta de Almeida Prado, para arguir a candidata, e em seguida para o professor Renato Christensen Nali, examinador externo, E para o professor Paulo Sergio Minatel Gonella Silva, para que fizessem o mesmo. Concluídos os trabalhos de apresentação e arguição, a candidata foi APROVADA conforme as normas vigentes na Universidade Federal del São João del-Rei. A versão final da dissertação deverá ser entregue ao programa no prazo de 30(trinta) dias, a contar da data de defesa, contendo as modificações sugeridas pela banca examinadora e constante na folha de correção anexa, conforme o artigo 97 da Resolução CONEP Nº 001, de 15 de março de 2023. A candidata não terá o título se não cumprir as exigências acima descritas

(Assinado digitalmente em 24/09/2024 17:51)

RAFAEL FELIX DE MAGALHAES

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

PGE (13.08)

Matrícula: ###547#0

(Assinado digitalmente em 25/09/2024 14:13)

PAULO SERGIO MINATEL GONELLA SILVA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.788-##

(Assinado digitalmente em 24/09/2024 11:29)

RENATO CHRISTENSEN NALI

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.258-##

(Assinado digitalmente em 02/10/2024 12:08)

TALITA DE REZENDE BUENO

DISCENTE

Matrícula: 2022#####9

(Assinado digitalmente em 24/09/2024 11:25)

CYNTIA PERALTA DE ALMEIDA PRADO

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.841-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufsj.edu.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 7, ano: 2024, tipo: **ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO**, data de emissão: **24/09/2024** e o código de verificação: **e836d542f2**

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B928s Bueno, Talita.
Seleção de micro-habitat reprodutivo pela perereca
macaco *Pithecopus ayeaye* (Anura, Hylidae,
Phyllomedusinae) / Talita Bueno ; orientador Rafael
Félix Magalhães; coorientador José Elvino
Nascimento Jr.. -- São João del-Rei, 2024.
44 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Ecologia) -- Universidade Federal de São João del
Rei, 2024.

1. desovas . 2. reprodução. 3. modos reprodutivos.
4. Melastomataceae. 5. preferência de micro-habitat.
I. Félix Magalhães, Rafael , orient. II. Elvino
Nascimento Jr., José , co-orient. III. Título.

Financiamento:



Apoio:



Universidade Federal
de São João del-Rei



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ECOLOGIA

Dedico este trabalho a meus pais Pedro e Aidê, que sempre acreditaram em mim, não medindo esforços para que eu pudesse completar mais uma etapa fundamental para meu desenvolvimento pessoal e profissional. Aos meus irmãos Tatiana e Thiago pelo apoio e incentivo. “In Memoriam” às minhas tias Alba e Áurea, que muito fizeram por mim.

Agradecimentos:

Agradeço primeiramente ao meu orientador Prof. Dr. Rafael Félix Magalhães, pela sua orientação na elaboração deste trabalho, pelo seu empenho, dedicação, paciência, compreensão em meus momentos difíceis e todo o aprendizado que me foi passado.

Agradeço ao meu coorientador Prof. Dr. José Elvino Nascimento Jr. pelo seu ensinamento nos procedimentos de coleta botânica e dedicação nas identificações das espécies coletadas, sem o qual o trabalho seria inviável.

Agradeço à Profa. Dra. Ana Claudia Alencar da Silva Santos por sua colaboração durante as tomadas de decisões para levantamento de dados da pesquisa para que as análises foliares fossem realizadas da melhor maneira possível.

Agradeço ao colaborador Prof. Dr. Davi Butturi-Gomes pela sua disponibilidade em auxiliar nas análises estatísticas necessárias para o desenvolvimento da pesquisa.

Agradeço a Daiane Röglin Silveira, por ter me acompanhado em todas as coletas de campo e auxiliado na organização e planilhamento dos dados, sendo seu apoio fundamental para que eu conseguisse cumprir todas as etapas de forma assertiva.

Agradeço a Amanda Rosa pela parceria, por realizar a contagem de tricomas foliares e planilhamento dos dados com muito empenho e cuidado, etapa que não seria possível sem sua ajuda.

Agradeço ao laboratório de Herpetologia do Departamento de Zoologia - ICB/UFMG pela disponibilização do equipamento estereomicroscópio Leica M205 C, necessário para obtenção das fotos de tricomas utilizadas para ilustrar o trabalho

Agradeço a Raíla pela disponibilidade em manusear o equipamento fornecido pela UFMG.

Agradeço meus amigos Tainá, Vanessa, Érica, Letícia, Ritinha, Jacinta, Fabíola, Samuel e Marcelo, que me acolheram em meus momentos de fraqueza e não me deixaram desistir.

Agradeço a todos os meus colegas do curso pela rede de apoio que formamos, o que foi essencial para deixar a vida mais leve.

Agradeço a todos os professores do programa por todo o conhecimento que me foi passado e à secretária Magda por ter sido um ponto de apoio essencial.

Agradeço a todos os membros do laboratório LDEAM-UFSJ pela parceria e acolhimento

Lista de Figuras

Figura 1. Localização das áreas de estudo	20
Figura 2. Exemplos de embriões mortos antes da eclosão.....	21
Figura 3. Categorias de densidades de tricomas	22
Figura 4. Representação esquemática do método para levantamento das plantas nos remansos.....	23
Figura 5. Levantamento de plantas. Amostragem em barranco.....	23
Figura 6. Preferência de plantas para construção de ninhos em diferentes serras.....	28
Figura 7. Relação entre o índice de diversidade de Simpson e a proporção de Melastomataceae.....	29
Figura 8. Gráfico de Posição das Desovas	30
Figura 9. Gráfico do modelo Boxcox para escolher o melhor modelo.....	32
Figura 10. Gráfico de envelope simulado.....	33
Figura 11. Gráfico do modelo quadrático.....	34

Lista de Tabelas

Tabela 1. Abundância de plantas de diferentes famílias encontradas nos remansos das serras de São José e do Lenheiro.	26
Tabela 2. Família de plantas utilizadas para construção de ninhos e suas porcentagens relativas, geral e para cada serra	27
Tabela 3. Famílias de plantas preferidas por <i>P. ayeaye</i> para a construção de ninhos em diferentes remansos.	27
Tabela 4. Índice de Diversidade de Simpson calculado para cada remanso.....	28
Tabela 5. Mortalidade dos embriões nos ninhos construídos em diferentes famílias de plantas.....	29
Tabela 6. Face da planta utilizada para construção dos ninhos e a mortalidade dos embriões nas desovas.....	31
Tabela 7. Número de ninhos construídos em cada categoria de densidade de tricomas e sua distribuição entre diferentes famílias de plantas.	31
Tabela 8. Modelos com as variáveis preditoras para explicar a abundância de ninhos.	33
Tabela 9. Coeficientes do modelo linear de abundância de ninhos.....	34
Tabela 10. Variáveis preditoras com $\Delta AIC \leq 2$ que explicam viabilidade das desovas	35
Tabela 11. Resultado dos três modelos escolhidos para explicar a variável abundância de ninhos.....	35

Sumário

Resumo	13
Abstract	14
Introdução	15
Material e Métodos	19
<i>Locais de estudo.....</i>	<i>19</i>
<i>Obtenção de dados.....</i>	<i>20</i>
<i>Análises dos dados.....</i>	<i>24</i>
Resultados	26
Discussão	35
Referências	38

Seleção de micro-habitat reprodutivo pela perereca-macaco *Pithecopus ayeaye* (Anura, Hylidae, Phyllomedusinae)

Talita Rezende Bueno TR^{a*}, Nascimento Jr JA^a, Butturi-Gomes D^b, Santos ACAS^a, Rosa AG^a, Silveira DR^a, Magalhães RF^a

^a Departamento de Ciências Naturais, Universidade Federal de São João del-Rei, Minas Gerais, Brasil.

^b Departamento de Matemática e Estatística. Universidade Federal de São João del-Rei, Minas Gerais, Brasil.

* talitarezendebueno@gmail.com

Esse trabalho foi apoiado pela Fundação de Amparo a Pesquisas de Minas Gerais (FAPEMIG) sob o subsídio número APQ-00325-21

Resumo

Indivíduos de *Pithecopus ayeaye* se reproduzem nas margens de riachos temporários de primeira ordem, usando folhas de arbustos pendentes sobre remansos para construir seus ninhos. Na maior parte da distribuição geográfica da espécie, estes riachos estão associados ao campo rupestre e outros ecossistemas campestres de altitude nos estados de Minas Gerais e São Paulo. Alguns trabalhos sugerem que *P. ayeaye* constrói seus ninhos em folhas de plantas da família Melastomataceae, mas não se sabe se essas plantas são selecionadas por serem abundantes ou porque as fêmeas as preferem. Considerando que o sucesso reprodutivo está associado à abundância e qualidade dos micro-habitats selecionados para a oviposição, o objetivo principal do trabalho foi avaliar se existe preferência de *P. ayeaye* por famílias de plantas, padrões morfológicos das folhas e posicionamento das folhas em relação aos remansos para a construção de ninhos, além de testar se as escolhas são adaptativas. As hipóteses analisadas foram: 1) indivíduos de *P. ayeaye* preferem construir ninhos em folhas de plantas da família Melastomataceae; 2) folhas com maiores área foliar e densidade de tricomas aumentam a sobrevivência dos embriões, 3) folhas mais próximas à lâmina d'água e à margem favorecem a sobrevivência dos embriões, 4) a abundância de ninhos é maior em remansos com maior volume d'água. De acordo com os resultados, houve preferência por plantas da família Melastomataceae para construção dos ninhos, confirmando a hipótese proposta. Já as características foliares não interferiram na sobrevivência dos embriões e sim, a posição vertical em relação à lâmina d'água, sendo que as desovas mais distantes da lâmina d'água tiveram maior viabilidade. Os remansos com maior volume de água favoreceram uma maior abundância de ninhos, favorecendo a reprodução local da espécie. Esses resultados demonstram a importância das características do micro-habitat para a sobrevivência e permanência da espécie no local, e por se tratar de espécie com distribuição restrita, imposta pela geografia dos locais de ocorrência, a degradação desses ambientes pode levar à diminuição e extinção local das populações. Sendo os campos rupestres e ecossistemas de altitudes regiões altamente fragmentadas e ameaçadas, principalmente pela agricultura e mineração, é necessário desenvolver programas de conservação para garantir as condições ambientais ideais para a espécie.

Palavras-chave: desovas; reprodução; modos reprodutivos; Melastomataceae; preferência de micro-habitat.

Abstract

Individuals of *Pithecopus ayeaye* reproduce on the banks of temporary first-order streams, using shrub leaves that hang over backwaters to build their nests. In most of the species' geographic distribution, these streams are associated with rupestrian grasslands and other high-altitude grassland ecosystems in the states of Minas Gerais and São Paulo. Some studies suggest that *P. ayeaye* nests are built on leaves of plants in the Melastomataceae family, but it is not known whether these plants are selected because they are abundant or because females prefer them. Given that reproductive success is linked to the abundance and quality of microhabitats chosen for oviposition, the primary objective of this study was to evaluate whether *P. ayeaye* shows a preference for certain plant families, leaf morphological patterns, and the positioning of leaves relative to backwaters for nest construction, as well as to test whether these preferences are adaptive. The hypotheses tested were: 1) *P. ayeaye* prefers to build nests on leaves from Melastomataceae plants; 2) leaves with larger surface area and higher trichome density enhance embryo survival; 3) leaves closer to the water surface and to the stream margin favor embryo survival; 4) the abundance of nests is greater in backwaters with higher water volume. The results indicate a preference for Melastomataceae plants for nest construction, confirming the hypothesis. Leaf characteristics do not affect embryo survival, but the vertical position relative to the water surface does, with spawning sites further from the water surface having greater viability. Backwaters with higher water volumes support a greater abundance of nests, which increases the individuals' fitness. These findings underscore the importance of microhabitat composition for the survival and persistence of the species in its environment. Given that this species has a restricted distribution due to the geography of its habitat, the degradation of these environments could lead to a decline and local extinction of populations. Since rupestrian fields and high-altitude ecosystems are highly fragmented and primarily threatened by agriculture and mining, conservation programs are necessary to ensure the ideal environmental conditions for the species.

Keywords: spawning; reproduction; reproductive modes; Melastomataceae; microhabitat preference

Introdução

Os lissanfíbios são um grupo que compreende uma ampla diversidade de espécies distribuídas por todos os continentes, exceto Antártica (Duellman e Trueb 1994; Bossuyt e Roelants 2009). O grupo se diversificou no início da era Mesozóica (Marjanović e Laurin 2013) e sua distribuição geográfica está relacionada às principais mudanças geológicas que ocorreram na Terra (Duellman e Trueb 1994; Bossuyt e Roelants 2009). Nessas centenas de milhões de anos de evolução, os modos reprodutivos também se diversificaram, favorecendo a utilização de diferentes tipos de microhabitats para reprodução, nidificação, descanso e alimentação, incluindo os ambientes aquático, terrestre e arbóreo (Haddad e Prado 2009, Nunes-de-Almeida 2021).

Dentre as 8753 espécies de anfíbios reconhecidas atualmente, quase 90% são anuros (Frost 2024), que inclui sapos, pererecas e rãs. No Brasil são registradas quase 1200 espécies (Segalla et al. 2021) e essa riqueza aumenta todos os anos (e.g., Mângia et al. 2022; Santos et al. 2023; Marinho et al., 2024). Os anuros são mesopredadores importantes nas redes alimentares (Ceron et al. 2019) e desempenham uma grande variedade de funções ecossistêmicas, como controle de pragas agrícolas e doenças humanas por consumirem larvas e invertebrados, ciclagem de nutrientes e dispersão de semente de plantas (Silva et al. 1989; Valencia-Aguilar et al. 2013).

Hylidae é a família com a maior riqueza, sendo reconhecidas 1059 espécies (Frost 2024) em três subfamílias monofiléticas: Hylinae, Pelodyadinae e Phyllomedusinae (Duellman 1977; Wiens et al. 2005; Faivovich et al. 2005; Wiens et al. 2010; Faivovich et al. 2018). O grupo tem uma distribuição ampla, com espécies distribuídas nas regiões Neotropical, Neártica, Paleártica, Saharo-Arábica, Sino-Japonesa, Australiana e Oceânica (*sensu* Holt et al., 2013; Frost et al., 2024). A maioria dos representantes da família possuem adaptações que favorecem ocupação para a vida arborícola, com a presença de discos adesivos bem desenvolvidos nos dedos e elementos intercalares nas falanges, o que favorece a escalada na vegetação (Duellman 1968; Caramaschi 2006; Haddad e Prado 2005; Wiens et al. 2005; Duellman 2016). De acordo com Haddad e Prado (2005), existem 11 modos reprodutivos associados aos hílideos, dentre os quais a oviposição pode ser aquática ou terrestre, com girinos endotróficos ou exotróficos.

A subfamília Phyllomedusinae é composta por 67 espécies pertencentes a 8 gêneros (Frost 2024), distribuídos da América Central à região cis-Andina (Almeida-Silva et al., 2024). As características diagnósticas dos representantes do grupo incluem pupila em fenda vertical e dorso verde com braços, coxas e flancos multicoloridos em azul, vermelho e/ou amarelo (Caramaschi e Cruz 2002; Caramaschi 2006; Faivovich et al 2005; Duellman et al. 2016). A reprodução é exclusivamente terrestre e ocorre em uma grande variedade de locais como troncos, fendas em rochas, raízes pendentes, folhas abertas ou dobradas pelos pais; os ovos são depositados com massa gelatinosa acompanhados ou não de cápsulas vazias e, após a eclosão, as larvas caem na água, onde completam seu desenvolvimento (Caramaschi e Cruz 2002; Faivovich et al. 2010; Duellman 2016).

Dentre os filomedusíneos, o gênero *Pithecopus* Cope, 1866 é constituído por 12 espécies (Andrade et al. 2020; Frost 2024) que se diferenciam das espécies dos outros gêneros pela ausência de dentes vomerianos e por possuírem o dedo I mais longo do que o dedo II e oponível a ele, além de pés retorcidos que possibilitam caminhar lentamente e se agarrar na vegetação, o que torna seu modo de locomoção o mais especializado dentre os dos hilídeos neotropicais (Lutz 1966; Caramaschi 2006; Duellman et al. 2016). Em geral, as espécies estão associadas a uma grande variedade de habitats, como lagoas e riachos, florestas ou formações abertas, grandes altitudes ou ambientes de baixada (Brandão 2002; Brandão et al. 2009, Pezzuti et al. 2021; Bandeira 2021). As desovas são depositadas na vegetação acima da água e os ninhos são construídos a partir uma ou mais folhas pendentes no entorno de corpos d'água, que são dobradas em um funil fechado em ambas as extremidades por cápsulas gelatinosas sem ovos (Duellman 1968; Brandão 2014). Além disso, a oviposição aérea é essencial para que os embriões não afoguem e sofram estresse respiratório (Warkentin 2002).

O monofiletismo do gênero foi reconhecido por Duellman (2016) e *Pithecopus* pode ser dividido em dois clados de acordo com os padrões de distribuição geográfica, sendo eles (1) o clado de altitude e Mata Atlântica, com espécies restritas a faixas altitudinais de 600m a 1600m e (2) o clado baixada, com espécies associadas a ambientes lênticos em áreas abertas, mesmo no domínio Amazônia (Bandeira et al. 2020; Magalhães et al. 2024). As espécies do gênero são encontradas desde o sul da Venezuela até o norte da Argentina (Frost 2024) e *Pithecopus ayeaye* B. Lutz, 1966, espécie focal deste trabalho, ocorre no campo rupestre e outros ecossistemas de altitude nos estados de Minas Gerais e São Paulo (Oliveira 2007; Brandão 2009; Magalhães et al. 2017).

A capacidade dos anuros de ocuparem diferentes ambientes favoreceu sua ampla distribuição e uma grande diversidade reprodutiva quando comparados a outros tetrápodes (Duellman e Trueb 1986; Haddad e Prado 2005; Crump 2015, Nunes-de-Almeida et al. 2021). Atualmente são reconhecidas duas classificações para os modos reprodutivos em anuros, uma com 41 modos reprodutivos (*sensu* Malagoli et al. 2021), modificada a partir da classificação de Haddad e Prado (2005) por inclusão de mais dois novos modos reprodutivo e a classificação de Nunes-de-Almeida et al. (2021) com 71 modos reprodutivos para anuros. Essa diversidade está relacionada aos padrões de adaptação à ocupação do habitat, correlacionada com diferenças morfológicas, comportamentais e fisiológicas das espécies (Haddad e Prado 2005; Crump 2015; Nunes-de-Almeida et al. 2021). De acordo com Gomez-Mestre et al. (2012), a reprodução em ambientes lênticos é a mais comum e plesiomórfica dentre os modos reprodutivos, estando os outros tipos relacionados à radiação adaptativa para os outros ambientes. Dentre os modos mais derivados, a reprodução terrestre pode estar relacionada com a pressão seletiva de predadores sobre os ovos e larvas aquáticas (Prado et al. 2002; Haddad e Prado 2005; Crump 2015), permitindo ainda estratégias de diminuição da desidratação da ninhada em períodos de estiagem, nos quais os corpos d'água podem secar (Crump 2015), de acordo com Zamudio et al. (2016) a competição entre os machos pode também ter exercido pressão para evolução dos modos terrestres, pois desovas escondidas estão menos sujeitas ao risco de poliandria. No ambiente terrestre, os ovos tendem a ser maiores, o que proporciona uma maior reserva de vitelo para a alimentação das larvas e desovas com um número reduzido de ovos, diminuindo a competição com outros girinos (Duellman e Trueb 1986; Gomez-Mestre et al. 2012). Além disso, a reprodução terrestre está relacionada a uma diminuição no tamanho do corpo em relação às espécies de reprodução aquática (Gomez-Mestre et al. 2012).

Os indivíduos selecionam os habitats de acordo com suas necessidades por recursos e condições ambientais adequadas (Morris 2003), sendo que a qualidade do habitat afeta diretamente a reprodução e a sobrevivência (Knight e Morris 1996; Garshelis 2000; Morris 2003; Silva e Giaretta 2008). Os micro-habitats são locais específicos selecionados dentro do habitat, variando em escalas espaciais e temporais de acordo com a preferência da espécie e a densidade populacional (Morris 1987; Garshelis, 2000; Morris 2003). A seleção dos micro-habitats associados à reprodução pode afetar a aptidão dos indivíduos, a dinâmica populacional e a estrutura das comunidades (Morris 2003; Silva e Giaretta 2008).

Os micro-habitats utilizados para a reprodução de *P. ayeaye* são remansos formados ao longo de riachos temporários ou permanentes, com vegetação ciliar herbácea e arbustiva, cujas plantas são utilizadas para a oviposição (Oliveira 2017; Borges et al. 2018; Pezzuti et al. 2021). A atividade reprodutiva é prolongada, entre os meses de outubro e janeiro, se iniciando após as primeiras chuvas (Oliveira 2017; Borges et al. 2018). O desenvolvimento embrionário é rápido, já que a maior parte dos locais de oviposição ocorre em remansos de riachos temporários e os girinos devem completar sua metamorfose antes que eles sequem, como constatado por Oliveira (2017). Durante o período reprodutivo, os machos se reúnem na vegetação próxima aos corpos d'água e iniciam os cantos de anúncio, eles possuem fidelidade de sítio reprodutivo (Nali et al. 2015; Borges et al. 2018). O processo de oviposição se inicia com o amplexo na porção distal da face adaxial da folha e a fêmea a dobra utilizando os braços e pernas à medida que se desloca para a parte proximal, depositando os ovos simultaneamente (Oliveira 2017). Dos ovos eclodem girinos exotróficos que caem em remansos de riachos temporários ou permanentes, o que caracteriza o modo reprodutivo 25 (*sensu* Haddad e Prado 2005) ou modo 22 (*sensu* Nunes-de-Almeida et al. 2021).

A seleção dos locais de oviposição depende da abundância e qualidade dos micro-habitat (Silva e Giaretta 2008) e supõe-se que indivíduos de *P. ayeaye* necessitam de plantas com folhas adequadas para garantir seu sucesso reprodutivo (Dias et al. 2014; Oliveira 2017; Borges et al. 2018). Hipotetiza-se que a escolha da folha para construção do ninho esteja associada a uma redução na chance de dessecação dos ovos, exigindo que as fêmeas avaliem critérios favoráveis para contornar as condições adversas que ocorrem no ambiente (Silva e Giaretta 2008; Crump 2015). De acordo com Johnson (1980), a preferência de habitat significa a probabilidade de um recurso ser escolhido pela espécie dentro do habitat selecionado, mesmo quando recursos alternativos estão disponíveis. Estudos prévios sugerem que há uma associação entre desovas de *P. ayeaye* e folhas de plantas da família Melastomataceae (Oliveira 2017; Borges et al. 2018), as quais são frequentemente cobertas de tricomas e possuem textura cartácea ou membranácea. No entanto, nenhum desses autores avaliou se de fato há preferência por Melastomataceae, ou se as plantas são frequentemente escolhidas por serem abundantes nas comunidades do entorno dos riachos.

Alguns autores também sugerem que as características das folhas também são importantes para a escolha pelas fêmeas. *Pithecopus azureus* e *P. hypochondrialis*, por exemplo, utilizam plantas das famílias Poaceae, Malvaceae e Melastomataceae para a

construção de ninhos (Rodrigues et al., 2007; Costa et al., 2010; Dias et al., 2014). Segundo Dias e colaboradores (2014), essas plantas compartilham a presença de tricomas que, juntamente com espinhos e acúleos, auxiliariam na fixação das desovas, protegendo-as e mantendo-as úmidas durante o desenvolvimento dos embriões. Se essa hipótese for verdadeira, a escolha das folhas para a construção dos ninhos seria adaptativa. Contudo, os autores não quantificaram os tricomas na superfície das folhas utilizadas para a produção dos ninhos, impedindo a avaliação da densidade associada à otimização da sobrevivência dos embriões. Adicionalmente, Oliveira (2017) e Borges et al. (2018) propuseram que tanto a densidade de tricomas quanto a área foliar devem favorecer a taxa de sobrevivência dos embriões.

O principal objetivo do trabalho foi avaliar as preferências de *P. ayeaye* por famílias de plantas, padrões morfológicos das folhas (por exemplo, área foliar e densidade de tricomas) e posicionamento das folhas em relação aos remansos para a construção de ninhos, além de testar se as escolhas são adaptativas. Considerando o conhecimento de fundo, as hipóteses são: 1) indivíduos de *P. ayeaye* preferem construir ninhos em folhas de plantas da família Melastomataceae; 2) folhas com maiores área foliar e densidade de tricomas aumentam a sobrevivência dos embriões. Além disso, nós também hipotetizamos que 3) folhas mais próximas à lâmina d'água e à margem favorecem a viabilidade das desovas, uma vez que os embriões estariam expostos a microclimas mais úmidos; além disso 4) a abundância de ninhos é maior em remansos com maior volume d'água, o que permite uma menor competição por recursos entre os girinos e um menor risco dos remansos mais profundos secarem, em comparação com outros trechos do riacho.

Material e Métodos

Locais de estudo

O estudo foi realizado em áreas de campo rupestre na Serra do Lenheiro localizada no município de São João del Rei e na Serra de São José na região pertencente ao município de Tiradentes (Figura 1), ambas localizadas na mesorregião Campos das Vertentes, no centro-sul de Minas Gerais e pertencentes ao complexo da Serra da Mantiqueira. Apesar disso, as Serras São José e do Lenheiro possuem composição florística semelhante às serras da Cadeia do Espinhaço por apresentarem afloramentos rochosos quartzíticos (Vasconcelos 2011). A região é identificada pelo clima Cwb,

segundo a classificação climática de Köppen, indicando um clima subtropical úmido com verões quentes e invernos amenos (Alvares 2013).

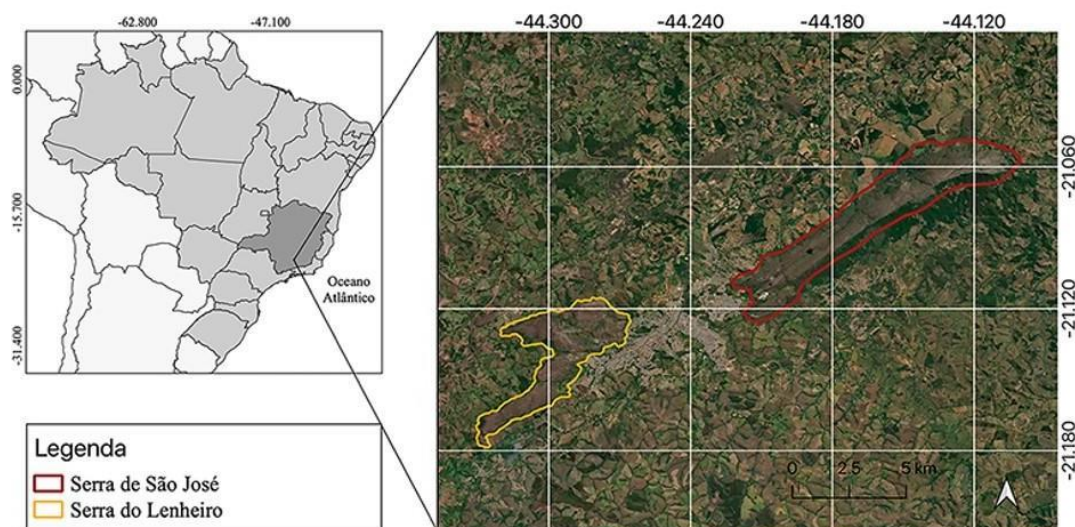


Figura 1. Localização das áreas de estudo. Em vermelho Serra de São José, localizada nos municípios de São João del Rei, Tiradentes, Prados, Santa Cruz de Minas e Coronel Xavier Chaves. Em amarelo Serra do Lenheiro localizada no município de São João del Rei. Ambas localizadas na mesorregião Campos das Vertentes, no centro-sul de Minas Gerais.

Fonte: Carvalho (2022)

Obtenção de dados

A busca pelos remansos onde *P. ayeaye* se reproduz foi feita ao longo de drenagens dendríticas de cabeceiras do topo das serras e ocorreu de forma ativa entre os meses de outubro de 2022 a fevereiro de 2023, período de reprodução da espécie (Oliveira 2016; Borges 2018). Nos locais onde a ocorrência da espécie foi confirmada, a vegetação no entorno dos remansos foi rastreada em busca de ninhos e, quando encontrados, a base da folha foi marcada com uma etiqueta verde assinalada com um número de identificação individual, o que possibilitou acompanhá-los até a eclosão.

O número de ninhos foi computado para cada remanso visitado, assim como a distância de cada ninho até a margem do remanso e até a lâmina d'água. Foram medidos a maior largura, o maior comprimento e a maior profundidade de cada remanso, a partir dos quais o volume foi estimado através do cálculo de metade do volume de um elipsoide (mv), dado pela fórmula

$$mv = \frac{(4\pi \times l \times c \times p) \div 3}{2},$$

sendo l = metade da largura, c = metade do comprimento e p = profundidade do corpo d'água.

O monitoramento das desovas ocorreu em intervalos de 10 dias, cada desova foi acompanhada até a eclosão ou mortalidade dos girinos, quando elas foram categorizadas em três tipos: (1) sobrevivência completa dos embriões, eclosão de 100% dos ovos, verificada quando a folha estava intacta e aberta, sem os ovos; (2) sobrevivência parcial dos embriões, nas quais um ou mais embriões morreram antes do final do desenvolvimento e (3) mortalidade total dos embriões, verificada pela morte de todos eles antes da eclosão. A mortalidade total foi identificada em ninhos fechados ou abertos, estando eles ressecados, predados ou com fungos (Figura 2). Essa categorização, em substituição à taxa de sobrevivência, foi realizada para evitar a influência humana na mortalidade dos embriões, já que a contagem dos ovos não poderia ser feita sem a abertura da folha, o que exporia os ovos à dessecação, predação e raios UV, por exemplo. Após a eclosão dos ovos ou verificação de mortalidade, as folhas foram coletadas para identificação da espécie de planta utilizada na construção do ninho, da face foliar onde os ovos foram depositados (i.e., abaxial ou adaxial) e das estimativas da área foliar e da densidade de tricomas.

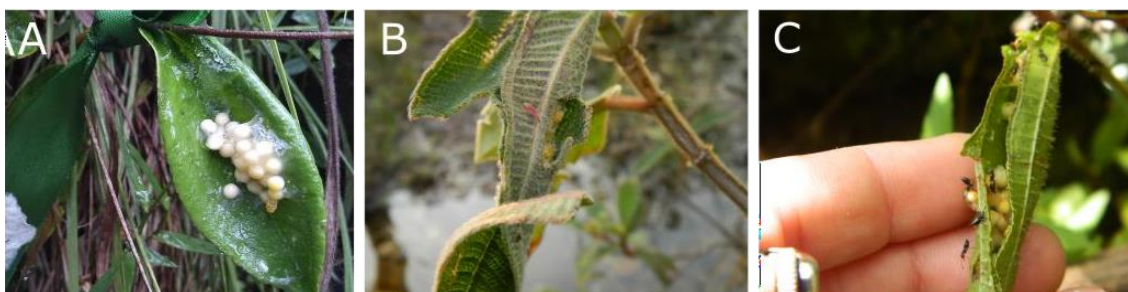


Figura 2. Exemplos de embriões mortos de *Pithecopus ayeaye* antes da eclosão. (A) Desova ressecada em folha aberta; ninhos predados por (B) predador não identificado e (C) por formigas, observados no município São João del Rei, Minas Gerais, Brasil.

Cada folha foi escaneada com uma escala de 20 mm e a área foliar foi aferida utilizando o software ImageJ versão 1.52n rodando em Java 1.8.0_112 (64-bit), disponível em <https://imagej.net/> (Schneider et. al. 2012). Para a estimativa da densidade dos tricomas na face foliar onde a desova foi depositada, foram fotografadas três áreas de 5 mm² em cada folha utilizando um estereomicroscópio Olympus SZ51, sendo uma área na base, uma no meio e outra no ápice da folha, todas ao redor da nervura central (Fig. 3A). A contagem dos tricomas foi realizada de forma manual e a estimativa da densidade

de tricomas em si foi obtida através da média entre as três áreas dividida por cinco (i.e., número de tricomas/mm²).

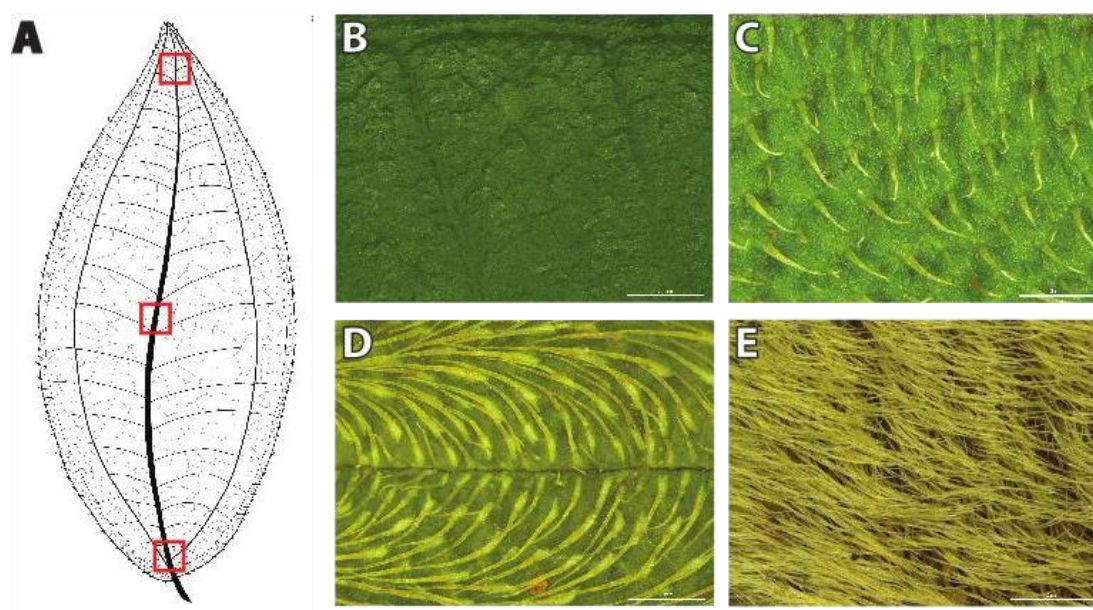


Figura 3. Categorias de densidades de tricomas: (A) representação esquemática das regiões amostradas e categorias de densidade de tricomas, sendo elas: (B) sem tricomas; (C) baixa densidade; (D) densidade moderada; (E) alta densidade.

Como os tricomas eram incontáveis em algumas folhas (e.g., Figura 3E) e outras não apresentavam tricomas, nós calculamos a média aritmética das densidades de tricomas aferíveis (i.e., 9,44 tricomas/mm²) e criamos quatro categorias de densidades foliares de tricomas tendo essa média como referência, sendo elas (1) sem tricomas (Figura 3B); (2) baixa densidade (abaixo da média, Figura 3C); (3) densidade moderada (acima da média, Figura 3D) e (4) densidade alta (folhas com tricomas incontáveis, Figura 3E). Essas categorias foram utilizadas como uma variável ordinal nas análises estatísticas subsequentes.

Após finalizado o monitoramento dos ninhos, a riqueza e a abundância das plantas no entorno de cada remanso foi estimada a partir um levantamento de todas as plantas maduras com folhas ou folículos acima de 2 cm de comprimento e de largura, pois em folhas menores a oviposição de *P. ayeaye* é improvável, uma vez que nenhum ninho foi construído em folhas com dimensões menores que essa (ver Resultados). Para garantir a proporcionalidade da amostragem em relação à circunferência dos remansos, foram utilizados quadrantes de 1m² posicionados com um dos lados alinhados com a margem e os demais lados alinhados com os quadrantes subsequentes (Figura 4), até que todo o entorno do remanso fosse amostrado. Nos remansos com perfil de margem em barranco

(i.e., com ângulo $\sim 90^\circ$ em relação à lâmina d'água), além dos quadrantes da margem, também foram amostradas as plantas presentes no barranco em si (Figura 5). Para cada remanso, as morfoespécies foram identificadas de acordo com a morfologia das folhas, ramos, flores e frutos (quando presentes), suas abundâncias foram contabilizadas e o ramo de um exemplar foi coletado e montado em exsicata para a identificação taxonômica.

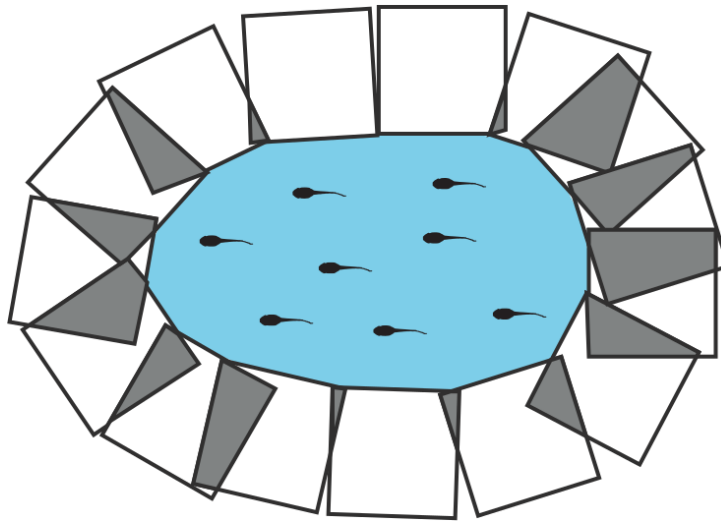


Figura 4. Representação esquemática do método para levantamento das plantas nos remansos. Remanso representado em azul, quadrantes da borda representados em branco e suas respectivas sobreposições em cinza, as quais foram computadas uma única vez.



Figura 5. Levantamento de plantas. Amostragem em barranco.

A identificação das plantas amostradas, assim como daquelas utilizadas para a construção dos ninhos por *P. ayeaye*, foi realizada pelo botânico José Elvino Nascimento Jr. através de comparações com plantas depositadas no Herbário da Universidade Federal de São João del Rei (HUFESJ), tendo como referência a lista da flora vascular da Serra São José (Alves e Kolbek, 2009).

Análises dos dados

Após a identificação das plantas, foram calculadas as abundâncias relativas de todas as famílias encontradas em cada remanso e a proporção de ninhos em cada uma delas. A diversidade de plantas em cada remanso foi estimada através do índice de Simpson (Simpson, 1949) modificado, refletindo o grau de diversidade de espécies nas amostras (Magurran 1988), dado pela fórmula

$$1 - D = \sum_{i=1}^s p_i^2$$

sendo $p_i = n_i/N$, onde n_i = abundância da família de plantas e N = total de família de plantas. Dada a nossa hipótese de preferência de plantas da família Melastomataceae para a construção de ninhos, foi verificado se as plantas dessa família eram dominantes nos remansos com baixa diversidade através de uma regressão linear entre a proporção de Melastomataceae e o índice de Simpson. Essas análises foram realizadas utilizando o software: R Core Team v. 4.1.1 (2024) disponível em <https://www.R-project.org/>.

Para o teste da preferência de *P. ayeaye* por plantas da família Melastomataceae para construção dos ninhos, foi utilizado o Índice Linear de Seleção de Recurso (*LI*) (Strauss 1979, modificado a partir de Ivlev 1961), dado pela equação

$$LI = r_i - p_i,$$

sendo r_i = utilização relativa do recurso (número de famílias de plantas utilizadas para construção dos ninhos / total de famílias de plantas) e p_i = disponibilidade relativa do recurso no ambiente. Os valores do índice variam de -1 a +1, com valores negativos indicando rejeição ao recurso, valores positivos indicando preferência pelo recurso e o valor zero indicando que os recursos são utilizados de forma aleatória. Aplicamos o índice

para cada serra separadamente e as plantas para as quais a identificação a nível de família não foi possível foram excluídas dessa análise.

Para avaliar os efeitos dos remansos e seu entorno sobre a abundância de ninhos, foram ajustados à variável resposta tanto modelos lineares generalizados (componentes aleatórios Poisson e Binomial Negativo e função de ligação logarítmica) como modelos lineares clássicos com transformação em potência de Box-Cox (Demétrio 2001). Os preditores iniciais de cada modelo continham as covariáveis volume de água do remanso e proporção de Melastomataceae, bem como sua interação de primeira ordem e seus respectivos efeitos quadráticos. O melhor modelo foi considerado aquele com menor valor de critério de informação de Akaike (AIC) e foi validado por análise de resíduos, em particular utilizando-se gráfico de quantil-quantil com envelope simulado (Faraway 2004).

Para testar se a escolha do local e tipo de planta para a produção dos ninhos é adaptativa, foram propostos modelos de razão de chances proporcionais (Agresti 2002; Agresti 2007), com três funções de ligação diferentes (probit, logito e complemento log-log), à viabilidade dos ninhos (100% eclosão, sobrevivência parcial, mortalidade completa), uma variável categórica ordinal. Após a seleção da função de ligação por AIC, foram ajustados modelos na presença e na ausência de efeito aleatório de remanso e foi aplicado o referido critério de informação. Finalmente, foi obtido o conjunto potência de todos os preditores possíveis, combinando-se as covariáveis área foliar (com transformação logarítmica), densidade de tricomas na folha, táxon (binária, indicando se o ninho foi produzido ou não em uma folha de Melastomataceae), distância horizontal do ninho até a lâmina d'água e seu respectivo valor ao quadrado, e distância vertical do ninho até a lâmina d'água e seu respectivo valor ao quadrado. Assim, foram ajustados 127 modelos preditores diferentes e foram considerados plausíveis apenas os modelos que produziram, além de um valor de AIC escalonado (delta-AIC) menor ou a igual a 2, além de pesos de Akaike com valores superiores àqueles esperados em situação de equiprobabilidade (Burnham e Anderson 2002; Lima et al. 2022).

Resultados

Foram detectados 68 ninhos de *P. ayeaye* em 13 remansos. Na Serra do Lenheiro, onde 10 remansos estavam em uma mesma cabeceira com riachos dendríticos, foram encontrados 62 ninhos. Os outros três remansos foram registrados na Serra São José, sendo dois deles com 5 ninhos em um riacho e um deles com um ninho em outro riacho.

A abundância das famílias de plantas levantadas no estudo e suas respectivas proporções estão listadas na Tabela 1. A família de Melastomataceae foi a mais abundante, representando 47,9% do total de plantas amostradas em todos os remansos. Ao analisar as proporções de Melastomataceae para cada serra em relação ao total de plantas encontradas por serra, a proporção foi 49% na Serra do Lenheiro e 42% na Serra São José.

Tabela 1. Abundância de plantas de diferentes famílias encontradas nos remansos das serras de São José e do Lenheiro. Ni = número de plantas e % = porcentagem de plantas em cada serra.

Família de Plantas	Serra do Lenheiro		Serra São José	
	Ni	%	Ni	%
Agavaceae	0	0,00	2	1,90
Apocynaceae	5	0,93	0	0,00
Araliaceae	9	1,67	0	0,00
Asteraceae	68	12,59	19	18,10
Burseraceae	5	0,93	0	0,00
Calophyllaceae	1	0,19	3	2,86
Clusiaceae	0	0,00	1	0,95
Commelinaceae	14	2,59	0	0,00
Convolvulaceae	2	0,37	0	0,00
Dilleniaceae	2	0,37	1	12,38
Erythroxylaceae	3	0,56	0	0,00
Euphorbiaceae	1	0,19	1	0,95
Fabaceae	1	0,19	0	0,00
Gesneriaceae	0	0,00	3	2,86
Indet	66	12,22	5	4,76
Malpighiaceae	2	0,37	2	1,90
Malvaceae	2	0,37	0	0,00
Melastomataceae	265	49,07	44	41,90
Moraceae	9	1,67	0	0,00
Myrtaceae	30	5,56	4	3,81
Piperaceae	4	0,74	0	0,00
Polypodiaceae	7	1,30	0	0,00
Primulaceae	15	2,78	3	2,86
Proteaceae	1	0,19	0	0,00
Rubiaceae	16	2,96	3	2,86

Rubiaceae	1	0,19	0	0,00
Smilacaceae	11	2,04	0	0,00
<u>Vochysiaceae</u>	<u>0</u>	<u>0,00</u>	<u>2</u>	<u>1,90</u>

Ao todo, 75% dos ninhos foram construídos em folhas de plantas da família Melastomataceae. Todos os ninhos da Serra de São José foram encontrados em plantas dessa família, enquanto na Serra do Lenheiro, esse uso foi de 73% (Tabela 2). Houve uma clara preferência por Melastomataceae para a construção dos ninhos nas duas serras (Figura 6), assim como em 77% dos remansos (Tabela 3). Nos demais remansos, houve preferência por plantas das famílias Asteraceae, Convolvulaceae, Malpighiaceae, Myrtaceae e Smilacaceae.

Tabela 2. Famílias de plantas utilizadas para construção de ninhos e suas porcentagens relativas, geral e para cada serra. (N) abundância de desovas

Família de plantas	Dados Gerais		Serra Lenheiro		Serra São José	
	N	%	N	%	N	%
Asteraceae	2	2,94	2	3,23	0	0
Convolvulaceae	4	5,88	4	6,45	0	0
Indeterminada	1	1,47	1	1,61	0	0
Malpighiaceae	1	1,47	1	1,61	0	0
Melastomataceae	51	75	45	72,58	6	100
Myrtaceae	7	10,29	7	11,29	0	0
Smilacaceae	2	2,94	2	3,23	0	0

Tabela 3. Famílias de plantas preferidas por *P. ayeaye* para a construção de ninhos em diferentes remansos. L.I. = Índice Linear de Seletividade de Plantas

Serra	Remanso	Família de Plantas	L.I.
Lenheiro	R01	Melastomataceae	0,46
Lenheiro	R02	Melastomataceae	0,50
Lenheiro	R03	Asteraceae	0,32
Lenheiro	R04	Melastomataceae	0,36
Lenheiro	R05	Convolvulaceae	0,19
		Malpighiaceae	0,04
		Myrtaceae	0,29
Lenheiro	R06	Melastomataceae	0,18
Lenheiro	R07	Smilacaceae	0,95
Lenheiro	R08	Melastomataceae	0,51
Lenheiro	R09	Melastomataceae	0,54
Lenheiro	R10	Melastomataceae	0,27
São José	R11	Melastomataceae	0,24
São José	R12	Melastomataceae	0,70
<u>São José</u>	<u>R13</u>	<u>Melastomataceae</u>	<u>0,66</u>

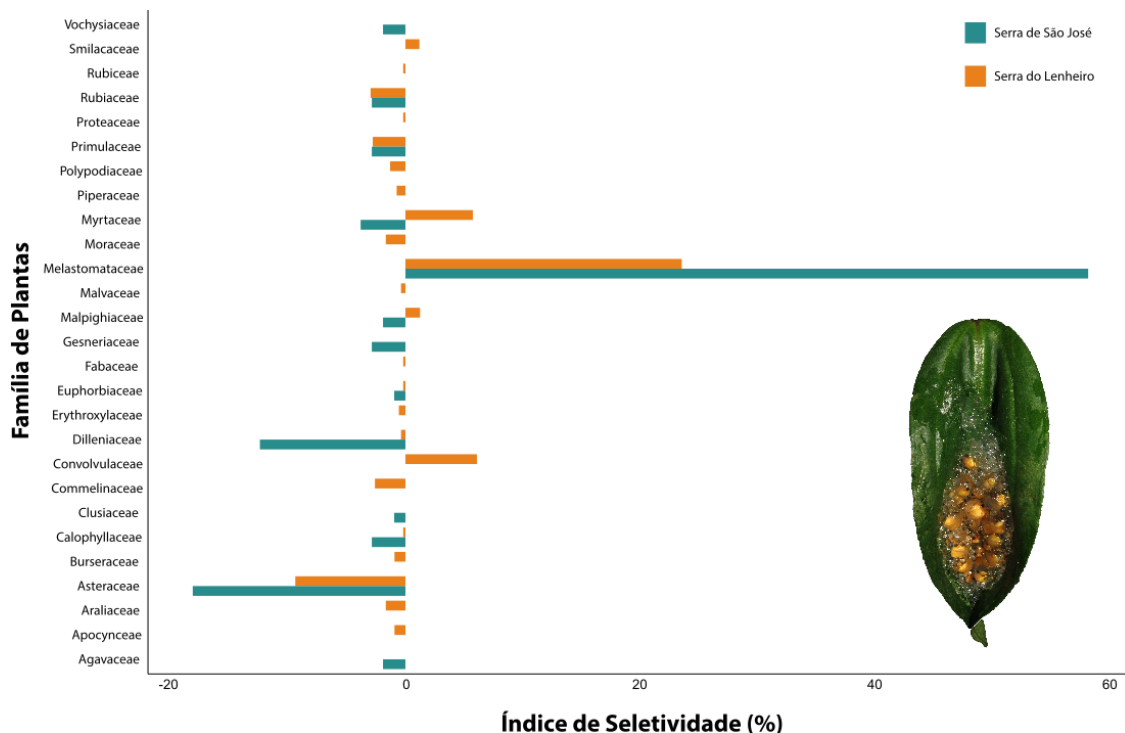


Figura 6. Preferência de plantas para construção de ninhos em diferentes serras do Escudo Brasileiro. Valores positivos indicam preferência e valores negativos rejeição às plantas de diferentes famílias e valores iguais a zero indicam, nesse caso, que o recurso não está disponível no ambiente. considerando que a análise foi realizada considerando o total de plantas de ambas as Serras e algumas espécies não estavam presentes em ambas.

O valor do índice de diversidade de Simpson foi similar entre as serras, sendo: $D = 0,721$ para a Serra do Lenheiro e $D = 0,768$ para a Serra São José. Tanto a proporção de Melastomataceae quanto o índice de diversidade de Simpson por remanso (Tabela 4) apresentaram distribuição normal dos erros. A correlação entre as variáveis foi forte ($R^2 = 0,899$, $p < 0,001$), indicando que a proporção de Melastomataceae pode ser utilizada como proxy do inverso da diversidade dos remansos (Figura 7). Apesar da dominância de Melastomataceae ter sido menor na Serra de São José do que na do Lenheiro, a preferência por plantas da família para a construção de ninhos por *P. ayeaye* foi mais acentuada nessa serra, indicando que a dominância sozinha não explica a escolha das plantas pela perereca.

Tabela 4. Índice de Diversidade de Simpson calculado para cada remanso.

Local	Índice de Diversidade
L01 R01	0,72
L02 R02	0,67
L02 R03	0,62

L02 R04	0,45
L02 R05	0,69
L02 R06	0,44
L02 R07	0,84
L02 R08	0,65
L02 R09	0,65
L02 R10	0,44
SJ01 R11	0,39
SJ02 R12	0,75
<u>SJ02 R13</u>	<u>0,81</u>

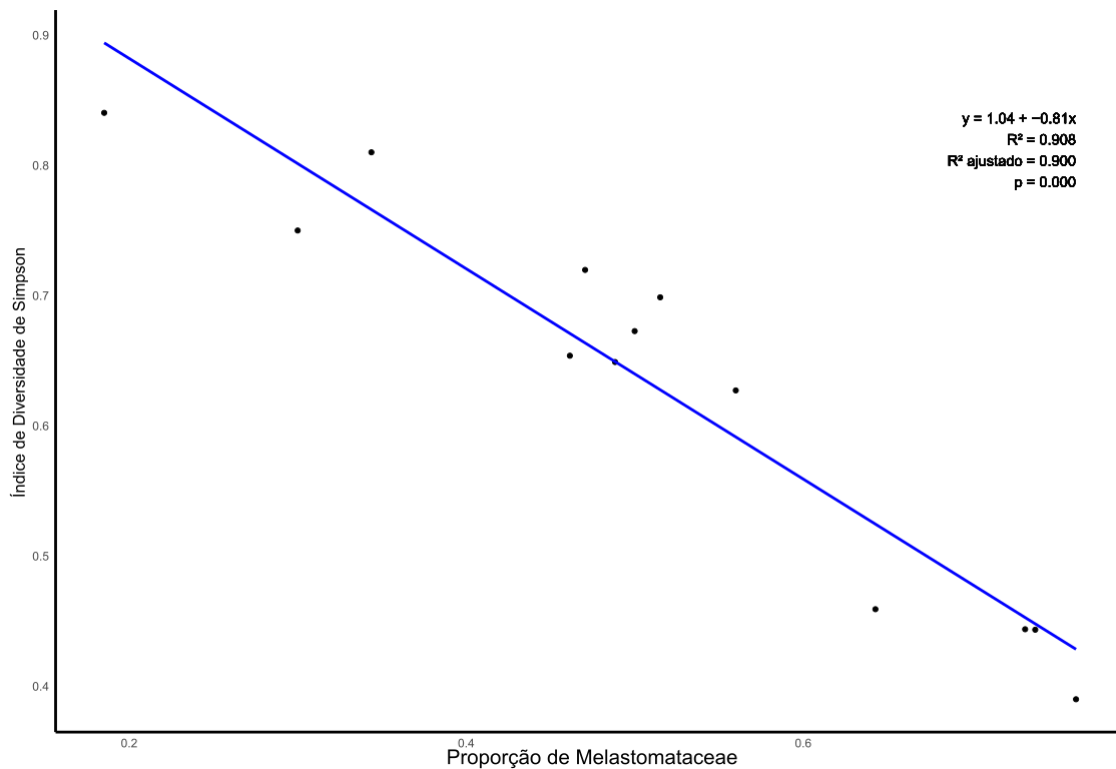


Figura 7. Relação entre o índice de diversidade de Simpson e a proporção de Melastomataceae nos remansos amostrados. A reta indica uma relação inversa entre as variáveis.

Todos os embriões sobreviveram em 52,9% dos ninhos monitorados e apenas parte deles sobreviveram em 33,9% dos ninhos. Houve mortalidade total dos embriões em apenas 13,2% dos ninhos monitorados e não houve relação entre a mortalidade dos embriões e o uso de Melastomataceae para a construção de ninhos (Tabela 5).

Tabela 5. Mortalidade dos embriões nos ninhos construídos em diferentes famílias de plantas. (A) sobrevivência total; (B) mortalidade parcial; (C) mortalidade total. Valores relativos obtidos pela razão entre o número de ninhos de cada categoria de viabilidade dividido pelo total de ninhos de cada categoria de viabilidade.

Famílias de Plantas.	Categorias de Viabilidade					
	A	B	C	% A	% B	% C

Asteraceae	1	1		2,78	4,35	0,00
Convolvulaceae	3		1	8,33	0,00	11,11
Ind.	1			2,78	0,00	0,00
Malpighiaceae		1		0,00	4,35	0,00
Melastomataceae	24	20	7	66,67	86,96	77,78
Myrtaceae	5	1	1	13,89	4,35	11,11
Smilacaceae	<u>2</u>			<u>5,56</u>	<u>0,00</u>	<u>0,00</u>
Total Geral	36	23	9	100	100	100

Dos 68 ninhos monitorados, aproximadamente 15% foram construídos na margem do remanso, 56% para dentro da margem e 29% foram para fora da margem. Excluindo os outliers (Figura 8), a altura mínima foi de 0,12m, a máxima de 1,27 m e a média de 0,628 m em relação à lâmina d'água. A distância máxima a partir da margem para dentro do remanso foi de 0,70 m e mínima de 0,03 m, com média = 0,266 m. Ninhos construídos para fora da margem do remanso tiveram distância mínima de 0,09 m e máxima de 0,79 m, com média de 0,284 m. Houve mortalidade total dos embriões em dois dos quatro ninhos outliers, um encostado na lâmina d'água e outro a 1,05 m para dentro da margem remanso.

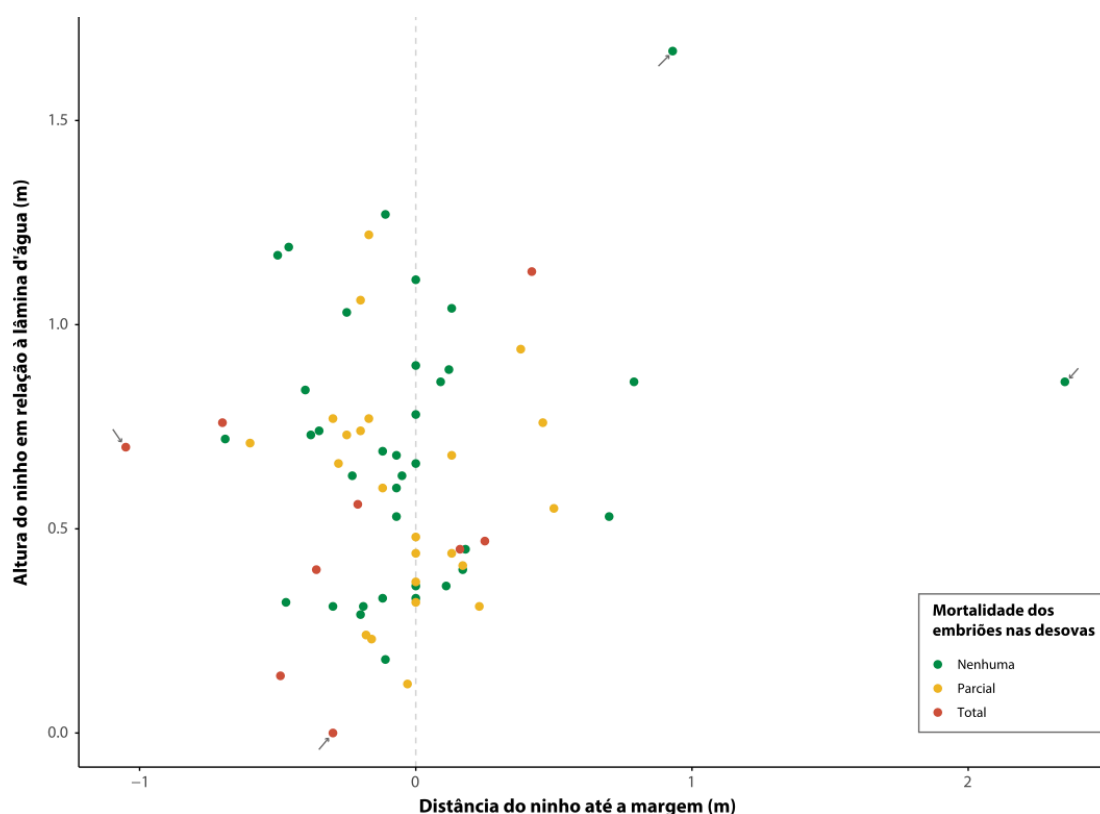


Figura 8. Gráfico de Posição das Desovas. Os pontos representam os dados de distância de cada ninho em relação à altura d'água (eixo y) e a distância vertical (eixo x).

Quanto à construção dos ninhos, 91,2% dos ninhos foram construídos na face adaxial da folha selecionada e desses, 53,2% apresentaram sobrevivência total dos embriões, 33,8% apresentaram mortalidade parcial e 12,9% apresentaram mortalidade total. Dos ninhos depositados na face abaxial, em 50% todos os embriões sobreviveram até a eclosão, enquanto houve 33,3% de mortalidade parcial e 16,7% de mortalidade total dos mesmos (Tabela 6).

Tabela 6. Face da planta utilizada para construção dos ninhos e a mortalidade dos embriões nas desovas, onde: (A) sobrevivência total; (B) mortalidade parcial e (C) mortalidade total.

Sobrevivência por família de planta escolhida para a construção dos ninhos	Face do ninho				
	Abaxial	Adaxial	Total	% Abaxial	% Adaxial
A	3	33	36	0,50	0,53
Asteraceae		1	1	0,00	0,03
Convolvulaceae		3	3	0,00	0,09
Ind.	1		1	0,33	0,00
Melastomataceae	1	23	24	0,33	0,69
Myrtaceae		5	5	0,00	0,15
Smilacaceae	1	1	2	0,33	0,03
B	2	21	23	0,33	0,33
Asteraceae		1	1	0,00	0,04
Malpighiaceae		1	1	0,00	0,04
Melastomataceae	2	18	20	1,00	0,85
Myrtaceae		1	1	0,00	0,04
C	1	8	9	0,16	0,12
Convolvulaceae		1	1	0,00	0,12
Melastomataceae	1	6	7	1,00	0,75
Myrtaceae		1	1	0,00	0,12
Total Geral	6	62	68		

Em relação à densidade de tricomas, 35,2% dos ninhos foram construídos em folhas sem tricomas, 42,6% em folhas com baixa densidade de tricomas, 11,7% em folhas com densidade média de tricomas e 10,2% em folhas com alta densidade de tricomas. A ampla maioria foi depositada em folha sem tricomas ou com baixa densidade de tricomas (Tabela 7).

Tabela 7. Número de ninhos construídos em cada categoria de densidade de tricomas e sua distribuição entre diferentes famílias de plantas.

Família de plantas	Alta	Densidade de tricomas		
		Média	Baixa	Sem tricomas
Asteraceae			1	1
Convolvulaceae				4

Indeterminada				1
Malpighiaceae				1
Melastomataceae	6	8	28	9
Myrtaceae	1			6
Smilacaceae				2
% das Categorias	0,1029	0,1176	0,4265	0,3529

O modelo de distribuição normal transformado com potência de Box-Cox para avaliar os efeitos dos remansos e seu entorno sobre a abundância de ninhos, foram ajustados à variável resposta tanto modelos lineares generalizados demonstrou que a transformação recomendada para aproximar os dados da realidade é a logarítmica, pois o valor zero ficou entre o intervalo de confiança (Figura 9), por isso a análise foi refeita com o logaritmo transformado. Os valores de Akaike (AIC) encontrados para cada modelo foi: 1) normal transformado, $AIC = 70,312$; 2) Poisson, $AIC = 80,814$; 3) binominal negativo, $AIC = 74,789$, indicando que o melhor modelo é o normal transformado, por apresentar o menor AIC. O índice do envelope simulado aplicado no modelo escolhido foi de 7,69% e, apesar do valor do índice estar acima de 5%, ele é um modelo confiável, pois apenas um ponto (resíduos do modelo dos dados reais) ficou fora dos 95% aceitáveis (Figura 10).

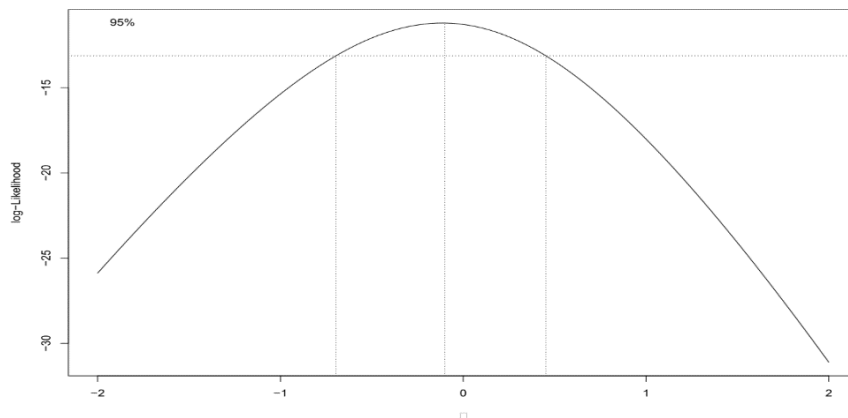


Figura 9. Gráfico do modelo Boxcox para escolher o melhor modelo. A curva representa a transformação de boxcox, as linhas verticais tracejadas representam o intervalo de confiança.

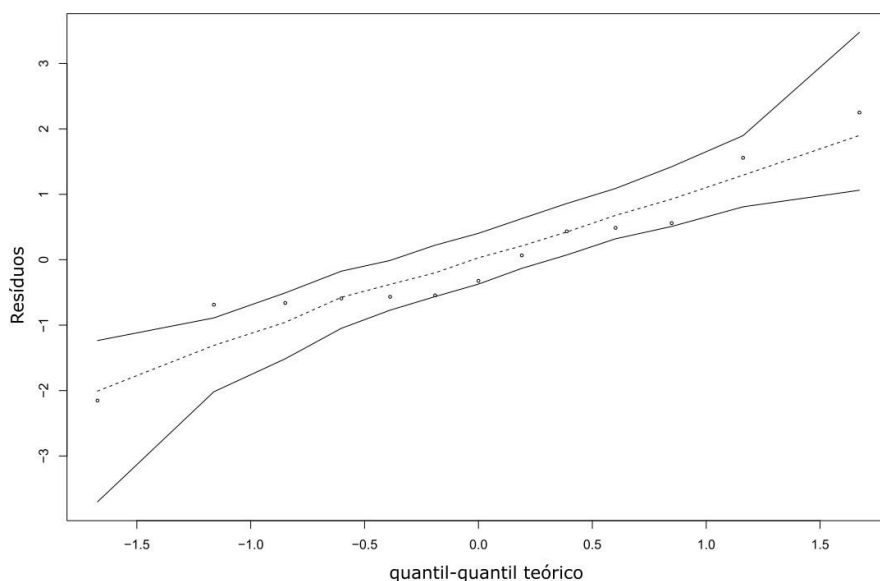


Figura 10. Gráfico de envelope simulado. Os pontos indicam os resíduos dos dados reais de todos os remansos. Linhas sólidas representam o limite do intervalo de confiança de 95%. (eixo y) resíduos.

As variáveis do estudo que melhor explicam a abundância de ninhos foram definidas utilizando o método de stepwise no modelo normal transformado (Tabela 8). Baseando nosso teste de hipótese e nossas previsões de acordo com o melhor modelo de abundância de ninhos, obtivemos um $p = 0,009$ para a variável volume do remanso (Tabela 9), demonstrando que existe uma alta correlação entre a abundância de desovas e o volume do remanso. Já a proporção quadrática de Melastomataceae apresentou um valor de $p = 0,086$ (Tabela 9). A relação entre a abundância de desovas esperada e proporção de Melastomataceae mostrou que existe uma tendência de relação entre uma proporção intermediária de plantas Melastomataceae e um número ótimo de ninhos (Figura 11).

Tabela 8. Modelos com as variáveis preditoras para explicar a abundância de ninhos. (1) Volume; (2) proporção de Melastomataceae (3) interação entre volume e proporção de Melastomataceae; (4) efeito quadrático do volume; (5) efeito quadrático de proporção de Melastomataceae.

Variáveis preditoras	AIC	Δ AIC	LL	AICw
1, 2, 5	-2,77	0,00	1	54,1
1, 2, 3, 5	-1,81	0,96	0,62	33,5
1, 2, 3, 4, 5	0,18	2,95	0,23	12,4

Tabela 9. Coeficientes do modelo linear de abundância de ninhos. (prop. Mel) proporção de Melastomataceae.

	Estimativa	Std. Erro	t value	Pr(> t)	
Intercepto	-2,627	1,835	-1,432	0,185	
Volume	0,411	0,125	3,286	0,009	*
prop. Mel	14,080	7,425	1,896	0,090	
I (prop. Mel ²)	-14,202	7,371	-1,927	0,086	

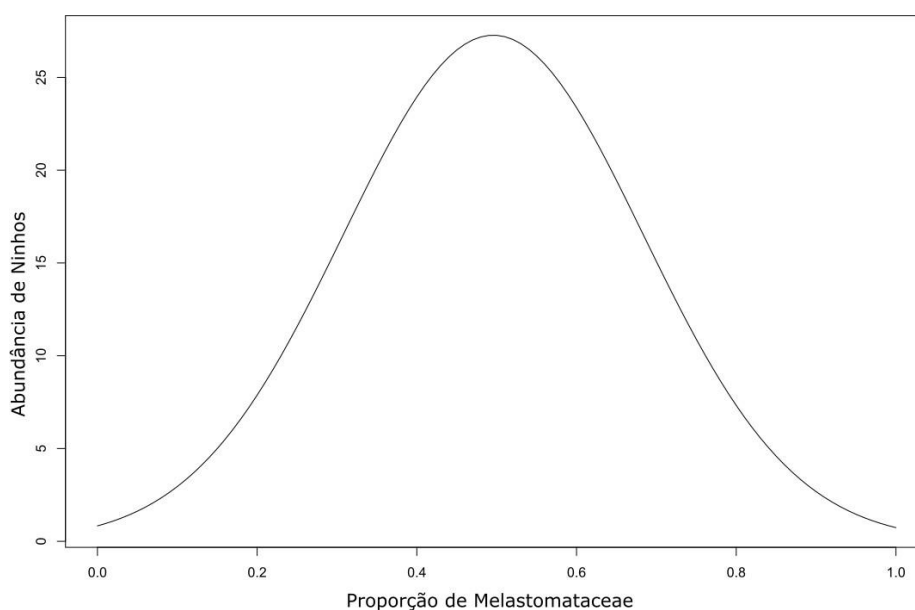


Figura 11. Gráfico do modelo quadrático. Proporção intermediária de plantas para um número ótimo de ninhos. (Ab) abundância de ninhos; (pmel) proporção de Melastomataceae.

Para determinar quais as variáveis explicam a mortalidade das desovas, foi criado um modelo de regressão logística ordinal com o critério de Akaike para determinar qual a melhor função de ligação para utilizar nos modelos de chances proporcionais. A função complemento log-log foi considerada a melhor, por apresentar o menor índice (AIC=127,9). Dos 127 diferentes modelos preditores, apenas 7 tiveram um Δ AIC menor ou igual a dois (Tabela 11). Considerando uma situação de equiprobabilidade, onde todos os modelos com AIC menor que 2 representassem igualmente a realidade, suas probabilidades seriam de 14% de chance de aproximação da realidade, dessa forma, apenas os modelos com pesos de Akaike superiores à 14% foram incluídos na análise, o que nos forneceu três modelos, sendo eles: 1) distância vertical do ninho até a lâmina d'água; 2) distância vertical do ninho até a lâmina d'água e seu respectivo valor ao quadrado e 3) distância vertical quadrática do ninho até a lâmina d'água. (Tabela 10). Ou

seja, de todas as variáveis preditoras incluídas no modelo inicial, apenas a variável de distância do ninho até a lâmina d'água explica a viabilidade dos ninhos. De acordo com os índices de estimativa (Tabela 11), à medida que a distância aumenta diminui a probabilidade de diminuir um nível de viabilidade.

Tabela 10. Variáveis preditoras com $\Delta AIC \leq 2$ que explicam a viabilidade das desovas. (dvla) distância vertical até a lâmina d'água; (dhla) distância horizontal até a lâmina d'água; (log (área)) logaritmo da área foliar; (tax) táxon da planta, é ou não Melastomataceae.

Variáveis preditoras	AIC	ΔAIC	LL	AICw
dvla	118,18	0,00	-56,09	26,45
dvla ²	119,21	1,02	-56,60	15,84
dvla, I(dhla ²)	119,29	1,10	-56,64	15,20
dvla, I(dvla ²)	119,65	1,46	-55,82	12,71
log(área), dvla	120,11	1,93	-56,05	10,07
dhla, dvla	120,14	1,96	-56,07	9,93
tax, dvla	120,17	1,98	-56,08	9,80

Tabela 11. Resultado dos três modelos escolhidos para explicar a variável abundância de ninhos. (dvla) distância vertical até a lâmina d'água, (A, B, C) categorias de viabilidade das desovas.

Variáveis	Coeficientes de Limite			
		Estimativa	Std. Erro	z value
dvla	A B	-0,71	0,34	-2,09
	B C	0,29	0,31	0,93
dvla	A B	-0,72	0,34	-2,11
	B C	0,29	0,31	0,93
I (dvla ²)	A B	-0,43	0,23	-1,80
	B C	0,56	0,21	2,60

Discussão

Os campos rupestres apresentam uma flora rica e com alto grau de endemismo (Silveira et al. 2016), estando as plantas da família Melastomataceae dentre as mais comumente encontradas neste ecossistema (Oliveira et al. 2016; Massante et al. 2023). Nossos dados concordam com esse padrão, revelando uma dominância de plantas dessa família na maior parte dos ambientes analisados. Apesar do maior número de ninhos *Pithecopus ayeaye* terem sido construídos em folhas de Melastomataceae, só foi possível afirmar que existe uma preferência aplicando o Índice Linear de Seleção de Recurso (LI) (Strauss 1979, modificado a partir de Ivlev 1961). A preferência por plantas da família Melastomataceae demonstrada pelo índice, corrobora a hipótese apresentada por Oliveira

(2017) e Borges et al. (2018). Além disso, os machos frequentemente utilizam galhos de Melastomataceae como poleiros para vocalizar, revelando outro benefício dessa associação para a espécie (Nali et al. 2015; Oliveira 2017; Borges et al. 2018).

Dos três remansos onde não houve preferência por folhas de plantas da família Melastomataceae para a construção de ninhos, um deles era permanente e circundado por mata ciliar com poucos arbustos. Nesse caso, a construção dos ninhos em plantas da família Smilacaceae pode estar relacionada à ausência de plantas ideais para a desova. Isso sugere que os casais de *P. ayeaye* podem utilizar recursos sub-ótimos em ambientes desfavoráveis. Curiosamente, houve preferência por Asteraceae em um dos remansos, enquanto elas foram rejeitadas em todos os outros. Rodrigues et al. (2007) em seu estudo sobre biologia reprodutiva das espécies *Pithecopus azureus* e *Phyllomedusa sauvagii* realizado na Serra da Bodoquena no Mato Grosso do Sul, relatou que as folhas das plantas de Asteraceae próximas aos remansos eram pequenas, deixando parte dos ninhos de *P. sauvagii* expostas à predação. Por outro lado, a espécie *P. rusticus* utiliza folhas de Asteraceae para construção de seus ninhos (Bastiani et al. 2019), o que sugere que as características foliares são mais importantes do que a associação com famílias específicas para a construção dos ninhos.

É importante ressaltar que a escolha por Melastomataceae não é uma regra para o gênero, visto que outras espécies usam folhas de outros tipos de plantas para a construção de ninhos, como é o caso de *P. azureus* que utiliza Poaceae e Malvaceae (Dias et al. 2014) e *P. rusticus* que utiliza Asteraceae (Bastiani et al. 2019). Contudo, nenhum desses autores estimou a disponibilidade de plantas nos ambientes, impedindo a avaliação da relação entre a abundância de plantas e aquelas selecionadas pelas pererecas.

Muitos trabalhos descrevem que folhas largas e a presença de tricomas podem ser importantes para garantir a sobrevivência e desenvolvimento dos embriões por conferirem proteção, termorregulação pela retenção de ar, manutenção da umidade e aderência dos ovos à folha (Abrunhosa e Wogel 2004; Dias et al. 2014; Oliveira 2017; Borges et al. 2018). Nossos resultados contradizem essa expectativa, já que 77,94 % dos ninhos foram construídos em folhas sem tricomas ou com baixa densidade deles. A proteção e hidratação fornecidas pelas cápsulas dos ovos, além da deposição de cápsulas gelatinosas sem ovos pelas fêmeas (Faivovich et al. 2010) parecem ser suficientes para a manutenção da umidade da desova, ao menos em *P. ayeaye*, e por isso os tricomas seriam dispensáveis na manutenção da temperatura e umidade. Adicionalmente, a escolha por folhas sem ou com baixa densidade de tricomas pode estar associada ao fato de que os

tricomas proporcionam um micro-habitat favorável à colonização de fungos (Kim 2019), o que poderia diminuir a sobrevivência dos embriões.

A densidade dos tricomas e a área foliar não parecem interferir na sobrevivência dos embriões até a eclosão, uma vez que a distância vertical do ninho em relação à lâmina d'água foi o principal preditor da mortalidade das desovas. Essa escolha pode ser influenciada por fatores abióticos como a temperatura do ar, umidade e vento, o que podem levar à desidratação das desovas (Prado e Pombal 2005). Por outro lado, ninhos construídos muito próximos à água podem morrer por afogamento em casos de aumento repentino do nível de água dos riachos (Warkentin 2002; Monteiro 2010). Apesar da distância horizontal do ninho em relação à margem não explicar a viabilidade das desovas, Garcia et al. (2013) sugerem que os ninhos localizados para dentro da margem são beneficiados por receberem umidade da evaporação do remanso. A maioria dos ninhos (56%) foram depositados para dentro da margem do remanso, o que pode estar associado aos fatores apontados por Garcia e colaboradores (2013). Apesar da área foliar não interferir na sobrevivência dos embriões, folhas maiores tendem a evitar que a desova fique mais exposta ao ar, evitando a desidratação e mantendo a integridade das cápsulas sem ovos, que são consideradas reservatórios de nutrientes para os embriões (Warkentin 2002).

A preferência por Melastomataceae não está associada com a abundância de ninhos, já que é o volume do remanso o melhor preditor para essa variável. Como *P. ayeaye* está restrita a regiões sazonais, que estão sujeitas a intempéries ambientais (Garcia et al. 2013), remansos com baixo volume de água estariam sujeitos a maior taxa de evaporação e, conseqüentemente, secagem, inviabilizando a sobrevivência dos girinos (Oliveira 2017). Estudos futuros devem avaliar por quais recursos os indivíduos competem, se o importante em remansos maiores é o recurso alimentar ou o espaço, sabendo que o uso do habitat é dependente da densidade (Morris 1987). De toda forma, os resultados indicam uma maior capacidade de suportar uma alta abundância de girinos em remansos maiores, verificado pela presença de um maior número de ninhos.

Uma das explicações mais difundidas sobre a evolução da reprodução terrestre é a evitação de predação em ovos e larvas aquáticos (Prado et al. 2002; Haddad e Prado 2005; Crump 2015). Porém, ovos terrestres também estão sujeitos à predação e à presença de fungos (Crump 2015). Das nove desovas com mortalidade total dos embriões, a inviabilidade de cinco foi causada por predação e de duas pela presença de fungos.

A posição vertical do ninho em relação à lâmina d'água foi a única variável associada à taxa de sobrevivência dos embriões até a eclosão, indicando que essa é uma escolha adaptativa. Pode-se concluir, portanto, que ao escolher uma determinada planta, a fêmea avalia qual posição da folha em relação à lâmina d'água aumentaria as chances de sobrevivência dos embriões. Apesar das preferências por tipo de planta e folhas não influenciarem na sobrevivência dos embriões até a eclosão, esse trabalho não realizou uma análise exaustiva de variáveis adaptativas, tais como taxa de desenvolvimento do embrião até a eclosão, eficiência de escape dos girinos ao cair na água, sobrevivência dos embriões em períodos de estiagem e outros fatores que influenciam a sobrevivência das larvas até o final da metamorfose. Em outras palavras, não se pode descartar a hipótese de que as escolhas por folhas de Melastomataceae ou folhas com poucos tricomas sejam adaptativas. Por exemplo, se em um período de estiagem durante a estação chuvosa o aporte de umidade para os embriões for maior nos ninhos construídos em folhas de Melastomataceae e/ou em folhas com nenhum ou poucos tricomas, os embriões podem apresentar um aumento na taxa de sobrevivência.

Contudo, hipóteses complementares aos nossos resultados devem ser avaliadas em múltiplos contextos ambientais e testadas utilizando outras variáveis que permitam a estimativa do valor adaptativo das escolhas feitas por *P. ayeaye*. Isso é reforçado pela observação de que algumas espécies apresentam plasticidade em relação à escolha do local de oviposição quando as condições ambientais não são favoráveis (Haddad e Prado 2005) o que sugere que a plasticidade nos modos reprodutivos é adaptativa (Nunes-de-Almeida 2021). Esses resultados servem como base para direcionar estudos futuros a avaliarem como e porque a espécie escolhe determinados tipos de folhas e plantas em detrimento de outras para a construção de seus ninhos.

Referências

1. Abrunhosa P & Wogel H. 2004. Breeding behavior of the leaf-frog *Phyllomedusa burmeisteri* (Anura: Hylidae). *Amphibia-Reptilia*. 25(2):125-135. <https://doi.org/10.1163/1568538041231157>
2. Agresti A. 2002. *Categorical Data Analysis*. In: John Wiley & Sons, Hoboken, 2ª ed. New Jersey. 267-298.
3. Agresti A. 2007. *An Introduction to Categorical Data Analysis* In: John Wiley & Sons, Hoboken, 2ª ed. New Jersey. 173-189.
4. Almeida-Silva D, Servino LM, Pontes-Nogueira M, Sawaya RJ. 2024. Marine introgressions and Andean uplift have driven diversification in Neotropical

- Monkey Tree Frogs (Anura, Phyllomedusinae). PeerJ, 12, e17232. <https://doi.org/10.7717/peerj.17232>
5. Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, Gonçalves JDM, Sparovek G. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*. 22(6):711-728.
 6. Alves RJV & Kolbek J. 2009. Summit vascular flora of Serra de São José, Minas Gerais, Brazil. *Check List*. 5(1):035-073.
 7. Andrade FS, Haga IA, Ferreira JS, Recco-Pimentel SM, Toledo L F, Bruschi D P. 2020. A new cryptic species of *Pithecopus* (Anura, Phyllomedusidae) in north-eastern Brazil. *European Journal of Taxonomy*. 723:108-134. <https://doi.org/10.5852/ejt.2020.723.1147>
 8. Bandeira LN, Villalobos F, Werneck FP, Peterson AT, Anciães M. 2021. Different elevational environments dictate contrasting patterns of niche evolution in Neotropical *Pithecopus* treefrog species. *Biotropica*. 53(4):1042-1051.
 9. Bastiani VIMD, Boschetti JP, Santos TG, Lucas EM. 2019. Tadpole of *Pithecopus rusticus* (Bruschi, Lucas, Garcia & Recco-Pimentel, 2014) (Anura, Phyllomedusidae): Description of external morphology and natural history notes of a microendemic species. *Biota Neotropica*. 19(1). <https://doi.org/10.1590/1676-061>
 10. Borges MM, Kwet A, Salerno P, Souza MB. 2020. Site fidelity, reproductive behavior, and investment in the Brazilian reticulate leaf frog, *Pithecopus ayeaye* Lutz, 1966 (Anura: Phyllomedusidae). *Herpetozoa*. 31(1-2):61.
 11. Bossuyt F, Roelants K. 2009. Frogs and toads (Anura). In: Hedges SB, Kumar S. *The Timetree of Life*. Oxford University Press. 357-364.
 12. Brandão RA. 2002. A new species of *Phyllomedusa* Wagler, 1830 (Anura: Hylidae) from Central Brazil. *Herpetologica*. 36(4):571-578.
 13. Brandão RA, Álvares GF, Crema A, Zerbini GJ. 2009. Natural history of *Phyllomedusa centralis* Bokermann 1965 (Anura: Hylidae: Phyllomedusinae): Tadpole and calls. *South American Journal of Herpetology*. 4(1):61-68.
 14. Burnham KP, Anderson DR. 2002. *Model Selection and Multimodel Inference*. In: *A Practical Information-Theoretic Approach*. 2^a ed. Springer.
 15. Caramaschi U. 2006. Redefinition of the *Phyllomedusa hypochondrialis* group, with redescription of *P. megacephala* (Miranda-Ribeiro, 1926), revalidation of *P. azurea* Cope, 1862 and description of a new species (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos do Museu Nacional*. 64(2):159-179.
 16. Caramaschi U & Cruz CAG. 2002. *Phyllomedusa*: Taxonomic status, habits, and biology (Amphibia, Anura, Hylidae). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*. 1(1):5-10.
 17. Carvalho SN, Costa MTR, Alves LL, Castro GC 2022. Orobanchaceae Vent. da Serra de São José e Serra do Lenheiro, Estado de Minas Gerais, Brasil. *Hoehnea*, 49. e392021. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-39/2021>.

18. Ceron K, Oliveira-Santos LGR, Souza CS, Mesquita DO, Caldas FL, Araujo AC, Santana DJ. 2019. Global patterns in anuran–prey networks: Structure mediated by latitude. *Oikos*. 128(11):1537-1548.
19. Costa TB, Guimarães LD, Bastos RP. 2010. Territorial and mating behavior in *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae) at a temporary pond in west-central Brazil. *Journal of Herpetology*. 9:99-108.
20. Crump ML. 2015. Anuran reproductive modes: Evolving perspectives. *Journal of Herpetology*. 49(1):1-16.
21. Demétrio CGB. 2001. Modelos Lineares Generalizados em Experimentação Agrônômica. ESALQ/USP – Piracicaba, SP. 01-57.
22. Dias TM, Maragno FP, Prado CPA, Cechin SZ. 2014. Reproductive site selection in the leaf-frog *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 (Anura: Hylidae) in altered areas of the Brazilian Cerrado. *Journal of Natural History*. 48(43-44):2689-2699.
23. Duellman WE. 1968. Descriptions of new hylid frogs from Mexico and Central America. University of Kansas Publications, Museum of Natural History. 17:559-578.
24. Duellman WE. 1977. List of recent amphibians and reptiles. Hylidae, Centrolenidae, Pseudidae. *Das Tierreich*. 95:1-225.
25. Duellman WE, Trueb L. 1986. Diversity and adaptive evolution of neotropical hylids (Amphibians: Anura: Hylidae). *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso*. 17:143-150.
26. Duellman WE, Trueb L. 1994. Evolutionary history of amphibians. In: Hedges SB, Kumar S, editors. *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill. 45-78.
27. Duellman WE, Marion AB, Hedges SB. 2016. Phylogenetics, classification, and biogeography of the treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). *Zootaxa*. 4104(1):1-109.
28. Faivovich J, Haddad CFB, Garcia PCA, Frost DR, Campbell JA, Wheeler WC. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 294:1-240.
29. Faivovich J, Haddad CFB, Baêta D, Jungfer Karl-Heinz, Álvares GRF, Brandão RA, Sheil C, Barrientos SL, Barrio-Amorós CL, Cruz CAG, Wheeler AC. 2010. The phylogenetic relationships of the charismatic poster frogs, Phyllomedusinae (Anura, Hylidae). *Cladistics*. 26(3):227-261.
30. Faivovich J, Pereyra MO, Luna MC, Hertz A, Blotto BL, Vásquez-Almazán CR, McCranie JR, Sánchez DA, Baêta D, Araujo-Vieira K et al. 2018. On the monophyly and relationships of several genera of Hylini (Anura: Hylidae: Hylinae), with comments on recent taxonomic changes in hylids. *South American Journal of Herpetology*. 13(1):1-32. <https://doi.org/10.2994/SAJH-D-17-00115.1>
31. Faraway JJ. 2004. Extending the Linear Model With R: Generalized Linear, Mixed Effects and Nonparametric Regression Models. 106-148.

32. Frost DR. 2024. Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.2 (Date of access). Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001
33. García CG, Lescano JN, Leynaud GC. 2013. Oviposition-site selection by *Phyllomedusa sauvagii* (Anura: Hylidae): An arboreal nester inhabiting arid environments. *Acta Oecologica*. 51:62-65.
34. Garshelis DL. 2000. Delusions in habitat evaluation: measuring use, selection, and importance. In: *Research techniques in animal ecology: controversies and consequences*. 2:111-164.
35. Gomez-Mestre I, Pyron RA, Wiens JJ. 2012. Phylogenetic analyses reveal unexpected patterns in the evolution of reproductive modes in frogs. *Evolution*. 66(12):3687-3700.
36. Holt BG, Lessard JP, Borregaard MK, Fritz SA, Araújo MB, Dimitrov D, Fabre Pierre-Henri, Graham CH, Graves GR, Jonsson KA et al. 2013. An update of Wallace's zoogeographic regions of the world. *Science*. 339(6115):74-78.
37. Gomez-Mestre I, Pyron RA, Wiens JJ. 2012. Phylogenetic analyses reveal unexpected patterns in the evolution of reproductive modes in frogs. *Evolution*. 66(12):3687-3700. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2012.01715.x>
38. Haddad CF, Prado CPA. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *BioScience*. 55(3):207-217.
39. Johnson DH. 1980. The comparison of usage and availability measurements for evaluating resource preference. *Ecology*. 61:65-71.
40. Kim KW. 2019. Tricomas vegetais como habitats microbianos e locais de infecção. *Eur J Plant Pathol*. 154:157–169. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-01656-0>
41. Knight TW, Morris DW. 1996. How many habitats do landscapes contain? *Ecology*. 77(6):1756-1764.
42. Lima FA, Butturi-Gomes D, Pantoja MHN, Martinelli-Lemos JM. 2022. Larval dispersal of *Brachyura* in the largest estuarine/marine system in the world. *PLoS One*.
43. Lutz B. 1966. *Pithecopus ayeaye*, a new Brazilian hylid with vertical pupils and grasping feet. *Copeia*. 236-240.
44. Magalhães RF, Lemes P, Camargo A, Oliveira U, Brandão RA, Thomassen H, Garcia PCA, Leite FSF, Santos FR. 2017. Evolutionarily significant units of the critically endangered leaf frog *Pithecopus ayeaye* (Anura, Phyllomedusidae) are not effectively preserved by the Brazilian protected areas network. *Ecology and Evolution*. 7(21):8812-8828. <https://doi.org/10.1002/ece3.3261>
45. Magalhães RF, Ramos KS, Bandeira E, Ferreira JS, Werneck FP, Anciães M, Bruschi DP. 2024. Integrative species delimitation uncovers hidden diversity within the *Pithecopus hypochondrialis* species complex (Hylidae),

- Phyllomedusinae) and its phylogeography reveals Plio-Pleistocene connectivity among Neotropical savannas. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 190(1):107959. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2023.107959>
46. Magurran AE. 1988. Diversity indices and species abundance models. In: *Ecological diversity and its measurement*. 7-45. Springer, Dordrecht.
 47. Malagoli LR, Pezzuti TL, Bang DL, Faivovich J, Lyra ML, Giovanelli JGR, Garcia PCA, Sawaya RJ, Haddad CFB. 2021. A new reproductive mode in anurans: Natural history of *Bokermannohyla astartea* (Anura: Hylidae) with the description of its tadpole and vocal repertoire. *PLoS One*. 16(2)
 48. Mângia S, Magalhães FM, Leite FSF, Cavalheri DG, Garda AA. 2022. A New Species of *Proceratophrys* (Anura: Odontophrynidae) from Boqueirão da Onça, Northern Bahia State, Brazil. *Journal of Herpetology*. 56(1):120-136. <https://doi.org/10.1670/20-070>
 49. Marinho P, Santos MTT, Faivovich J, Lyra ML, Giaretta AA, Haddad CF, Carvalho TR. 2023. A New Species of the *Aplastodiscus albosignatus* Group (Hylinae: Cophomantini) from the Northern Mantiqueira Mountain Range. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*.
 50. Marjanović D, Laurin M. 2013. The origin(s) of extant amphibians: a review with emphasis on the “lepospondyl hypothesis”. *Geodiversitas*. 35(1):207-272.
 51. Massante JC, Neri AV, Villa PM, Fialho IF, Pontara V, Bueno M, Gastauer M. 2023. Looking similar but all different: Phylogenetic signature of Brazilian rocky outcrops and the influence of temperature variability on their phylogenetic structure. *Journal of Ecology*. 111:1905–1920. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.14148>
 52. Monteiro VS. 2010. *Biologia comportamental e estudo da osteologia e miologia dos membros de Phyllomedusa ayeaye B. Lutz (1966) (Anura, Hylidae)*. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Biomas Tropicais) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.
 53. Morris DW. 1987. Ecological scale and habitat use. *Ecology*. 68(2):362-369.
 54. Morris DW. 2003. Toward an ecological synthesis: a case for habitat selection. *Oecologia*. 136(1):1-13.
 55. Nali RC, Borges MM, Prado CPA. 2015. Advertisement and release calls of *Phyllomedusa ayeaye* (Anura: Hylidae) with comments on the social context of emission. *Zoologia (Curitiba)*. 32(4):263-269.
 56. Nunes-de-Almeida CHL, Haddad CFB, Toledo LF. 2021. A revised classification of the amphibian reproductive modes. *Salamandra*. 57(1):413-427.
 57. Oliveira RS, Abrahão A, Pereira C, Teodoro GS, Brum M, Alcantara S, Lambers H. 2016. Ecophysiology of Campos Rupestres Plants. In: Fernandes G, editor. *Ecology and Conservation of Mountaintop grasslands in Brazil*. 11-45. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29808-5_11

58. Oliveira FFR. 2017. Mating behaviour, territoriality and natural history notes of *Phyllomedusa ayeaye* Lutz, 1966 (Hylidae: Phyllomedusinae) in south-eastern Brazil. *Journal of Natural History*. 51(11-12):657-675.
59. Pezzuti TL, Leite FSF, Rossa-Feres DDC, Garcia PCA. 2021. The tadpoles of the Iron Quadrangle, Southeastern Brazil: a baseline for larval knowledge and anuran conservation in a diverse and threatened region. *South American Journal of Herpetology*. 22(1):1-107.
60. Prado CP, Uetanabaro M, Haddad CF. 2002. Description of a new reproductive mode in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with a review of the reproductive specialization toward terrestriality in the genus. *Copeia*. 2002(4):1128-1133.
61. Prado GM & Pombal Jr JP. 2005. Distribuição espacial e temporal dos anuros em um brejo da Reserva Biológica de Duas Bocas, sudeste do Brasil. *Arquivos do Museu Nacional*. 63(4):685-705.
62. R Core Team. 2024. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
63. Rodrigues DJ, Uetanabaro M, Lopes FS. 2007. Breeding biology of *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 and *P. sauvagii* Boulenger, 1882 (Anura) from the Cerrado, Central Brazil. *Journal of Natural History*. 41(29–32):1841–1851. <https://doi.org/10.1080/00222930701507220>
64. Santoro GRCC, Brandão RA. 2014. Reproductive modes, habitat use, and richness of anurans from Chapada dos Veadeiros, central Brazil. *North-Western Journal of Zoology*. 10(2).
65. Santos MT, Pinheiro PD, Garcia PC, Griffiths RA, Haddad CF, Barata IM. 2023. A new species of *Crossodactylodes* from the Espinhaço Mountain range, southeastern Brazil (Anura: Leptodactylidae: Paratelmatobiinae). *Herpetologica*. 79(2):108-118.
66. Schneider C, Rasband W, Eliceiri K. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*. 9(7):671-675.
67. Segalla MV, Berneck B, Canedo C, Caramaschi U, Cruz CG, Garcia PDA, Grant T, Haddad CFB, Lourenço ACC, Mângia S, et al. 2021. List of Brazilian amphibians. *Herpetologia Brasileira*. 10(1):121-216.
68. Silva HRD, De Britto-Pereira MC, Caramaschi U. 1989. Frugivory and seed dispersal by *Hyla truncata*, a neotropical treefrog. *Copeia*. 1989(3):781-783.
69. Silva WR & Giaretta AA. 2008. Seleção de sítios de oviposição em anuros (Lissamphibia). *Biota Neotropica*. 8:243-248.
70. Silveira FAO, Negreiros D, Barbosa NP, Buisson E, Carmo FF, Carstensen DW, Echternacht L, Fernandes GW, Garcia QS, Guerra TJ, et al. 2016. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant and Soil*. 403(1):129-152.

71. Simpson EH. 1949. Measurement of diversity. *Nature*. 163(4148):688-688.
72. Strauss RE. 1979. Reliability estimates for Ivlev's electivity index, the forage ratio, and a proposed linear index of food selection. *Transactions of the American Fisheries Society*. 108(4):344-352.
73. Valencia-Aguilar A, Cortés-Gómez AM, Ruiz-Agudelo CA. 2013. Ecosystem services provided by amphibians and reptiles in Neotropical ecosystems. *International Journal of Biodiversity Science, Ecosystem Services & Management*. 9(3):257-272.
74. Vasconcelos MF. 2011. O que são campos rupestres e campos de altitude nos topos de montanha do Leste do Brasil? *Brazilian Journal of Botany*. 34:241-246.
75. Zamudio KR, Bell RC, Nali RC, Haddad CF, Prado CP. 2016. Polyandry, predation, and the evolution of frog reproductive modes. *The American Naturalist*. 188(S1): S41-S61.
76. Warkentin KM. 2002. Hatching timing, oxygen availability, and external gill regression in the tree frog, *Agalychnis callidryas*. *Physiological and Biochemical Zoology*. 75(2):155-164.
77. Wiens JJ, Fetzner JW, Parkinson CL, Reeder TW. 2005. Hylid frog phylogeny and sampling strategies for speciose clades. *Systematic Biology*. 54:719-748.
78. Wiens JJ, Kuczynski CA, Hua X, Moen DS. 2010. An expanded phylogeny of treefrogs (Hylidae) based on nuclear and mitochondrial sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 55(3):871-882.