

**ESTIMATIVA POPULACIONAL DE *Pseudis cardosoi* (ANURA, HYLIDAE),  
COM EMPREGO DE MÉTODO FOTOGRÁFICO PARA  
RECONHECIMENTO INDIVIDUAL**

**Tatiana Miranda<sup>1</sup>  
Martin Ebner<sup>2</sup>  
Mirco Solé<sup>3</sup>  
Axel Kwet<sup>4</sup>**

**RESUMO**

Um estudo populacional de *Pseudis cardosoi* KWET, 2000 foi realizado ao longo de 11 meses, na Fazenda Três Estrelas, localizada no município de São Francisco de Paula, RS, empregando-se um método fotográfico para reconhecimento individual. Este método consiste em fotografar as marcas naturais presentes na face interna das coxas de *P. cardosoi*, que são únicas para cada indivíduo da população. Estas marcas estão presentes em machos e fêmeas e são invariáveis ao longo da metamorfose e da fase adulta. Foram fotografados 49 machos, 31 fêmeas e 30 juvenis. O método proporcionou reconhecimento individual inequívoco e a frequência de recapturas foi alta: 13 machos (26,5%), oito fêmeas (25,8%) e cinco juvenis: (16,7%). Através do método Jolly-Seber, a população local foi estimada em 129,5 indivíduos.

**Palavras-chave:** Hylidae, *Pseudis cardosoi*, estudo populacional, método fotográfico, marcas naturais.

**ABSTRACT**

**Estimation of population size in *Pseudis cardosoi* (Anura, Pseudidae), using photoidentification as a method for individual recognition.**

A population study in *Pseudis cardosoi* KWET, 2000 was carried out during 11 months at “Três Estrelas” farm in the municipality of São Francisco de Paula, RS, using a photographic method for individual recognition. This method is based on recording of the thigh colour pattern of the inner part of the hind legs in *P. cardosoi*, which is unique for each individual in the population. This unique thigh colour pattern is found in males and females, not changing during or after metamorphosis and at the adult life stage. A total of 49 males, 31 females and 30 juveniles were photographed. The method allowed unambiguous individual recognition and the frequency of recaptures was high: 13 males (26.5%), eight females (25.8%) and five juveniles (16.7%). Using the Jolly-Seber method, the local population was estimated of 129,5 individuals.

**Key words:** Hylidae, *Pseudis cardosoi*, population study, photographic method, natural marks.

Recebido em: 26.08.04; aceito em: 03.05.05.

<sup>1</sup> Laboratório de Pesquisas Biológicas (LPB), Faculdade de Biociências, PUCRS. Av. Ipiranga, 6681, CEP 90619-900 Porto Alegre, RS, Brasil – E-mail: tati\_miranda2004@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Universidade de Tübingen, Institut für Geowissenschaften, Sigwartstr. 10, D-72076 Tübingen, Alemanha.

<sup>3</sup> Universidade de Tübingen, Zoologisches Institut, Auf der Morgenstelle 28, D-72076 Tübingen, Alemanha.

<sup>4</sup> Staatliches Museum für Naturkunde Stuttgart, Zoologie, Rosenstein 1, D-70191 Stuttgart, Alemanha.

## INTRODUÇÃO

Estudos recentes no Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza Pró-Mata (CPCN Pró-Mata), situado no limite sudeste da Floresta com Araucária, mostraram que quase um terço das 36 espécies encontradas constituíram espécies novas, espécies revalidadas, ou registros novos para o Rio Grande do Sul (KWET e DI-BERNARDO, 1999; KWET, 2001). Dentre as espécies descritas para esta área encontra-se *Pseudis cardosoi* KWET, 2000, anfíbio anuro recentemente incluído na família Hylidae como subfamília Pseudinae (DULLMANN, 2001), esta proposta foi questionada por BRANDÃO et al. (2003), que trata os Pseudinae como família própria (Pseudidae). DARST e CANNATELLA (2004) sugeriram que Pseudinae está inserido em Hylidae (Hylinae), sugerindo a sinonimização não só de Pseudidae, mas também de Pseudinae com Hylinae. Neste trabalho nós adotamos DARST e CANNATELLA, 2004 tratando os “Pseudidae” como Hylidae. O gênero *Pseudis* é composto por espécies exclusivamente aquáticas, que ocorrem na América do Sul a leste dos Andes, desde a Venezuela até o leste da Argentina e Uruguai (FROST, 2004). A distribuição de *Pseudis cardosoi* abrange as áreas do Planalto das Araucárias nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Caracteriza-se pelo macho exibir dois sacos vocais (KWET, 2000), um dimorfismo sexual evidente, que auxilia na identificação dos sexos.

Existem diferentes métodos de marcação e recaptura para estudos populacionais, e o método fotográfico pode ser uma alternativa não ofensiva em relação aqueles que empregam a amputação de falanges (“toe clipping”, HERO, 1989; DONNELLY et al., 1994), ou outros métodos invasivos (MEYER e GROSSE, 1997; STREICH et al., 1997). A amputação de falanges foi o método de marcação dominante para anfíbios até o início dos anos 90, ainda sendo usado atualmente (BOOMSMA e ARNTZEN, 1985; TEJEDO, 1988; SINSCH, 1992; KUHN, 1994; VAN GELDER e STRIJBOSCH, 1996).

Certos anfíbios apresentam padrões de desenhos que são únicos para cada indivíduo, distinguindo-os dos outros membros da população. Métodos que dão ênfase a estes padrões de desenhos naturais podem ser empregados em geral (WINKLER e HEUNISCH, 1997). Para anfíbios anuros, estes métodos não são normalmente usados, embora esta metodologia possa ser necessária como alternativa a métodos invasivos (McCARTHY e PARRIS, 2004).

Através de estudos preliminares, observamos que todos indivíduos da espécie *Pseudis cardosoi* apresentam um desenho na face interna das coxas de ambas as pernas, que é único para cada animal e que funciona como uma “impressão digital”. Percebemos que este desenho poderia ser usado como uma marca natural e que o método não causaria dano físico nos exemplares registrados perante os outros membros da população, que não foram marcados.

Este estudo objetivou apresentar um novo método de marcação para anfíbios anuros, estimar o tamanho da população de *P. cardosoi* em quatro poças situadas no Planalto das Araucárias do Rio Grande do Sul e verificar se nestas poças as populações eram isoladas ou uma população aberta.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho de campo foi desenvolvido na Fazenda Três Estrelas, 923 m acima do nível do mar. Esta área é próxima ao CPCN Pró-Mata, localizado entre os paralelos 29°27' e 29°35' S e os meridianos 50°08' e 50°15' W, no município de São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul (BERTOLETTI e TEIXEIRA, 1995). Os estudos foram realizados no período de 17.02 a 02.12.2003, com excursões mensais a campo. As coletas foram realizadas em quatro poças identificadas como B1 (23,5 × 7,7 m), B2 (36 × 16 m), B3 (27 × 25 m) e B4 (30 × 18 m). A distância entre B1 e B2 foi de 15,5 m; as poças B2 e B3 permaneceram ligadas por um canal durante a época de chuvas, e a distância entre elas foi de 13,5 m. A distância entre B3 e B4 foi de 52 m, entre B1 e B3 de 29 m, entre B1 e B4 de 83,5 m e entre B2 e B4 de 58,1 m.

Os anuros foram capturados no campo, armazenados em baldes com água e levados ao laboratório. O método de reconhecimento individual consistiu em fotografar as coxas de cada espécime, onde estão os desenhos com linhas, manchas e pontos, usando câmara fotográfica digital Caplio RR30, com 3.2 mega pixels e zoom óptico. Cada indivíduo foi posicionado com o ventre voltado para cima, sobre fundo contrastante, com uma etiqueta contendo os dados de coleta (local, data e código do indivíduo) e fotografado. A câmara fotográfica foi fixada em suporte de modo a permitir que cada foto fosse tirada sempre a uma mesma distância (12 cm) (Fig. 1). Depois de fotografados os hilídeos coletados foram devolvidos para as poças onde foram capturados. As fotos foram transferidas para um computador, impressas e coladas na ficha individual de cada exemplar, e um álbum di-

gital foi elaborado. As fichas continham dados sobre a coleta e sobre o espécime capturado (local de captura, coletores, número de campo, número da captura, código, data da coleta, data da soltura, hora da coleta, temperatura do ar, temperatura da água, umidade do ar, número de campo, idade, sexo, dados sobre a atividade, comprimento rostro-cloacal (CRC), massa, observações). Para o cálculo do tamanho da população ( $N_i$ ) e desvio padrão ( $SE N_i$ ), usou-se o método Jolly-Seber (DONNELLY e GUYER, 1994):

$$N_i = \frac{M_i (n_i + 1)}{(m_i + 1)}$$

$$SE N_i = \left\{ N_i(N_i - n_i) \left[ \frac{M_i - m_i + r_i}{M_i} \left( \frac{1}{y_i} + \frac{1}{r_i} \right) + \frac{1}{m_i} + \frac{1}{n_i} \right] \right\}$$

onde  $M_i$  é o número de animais registrados em risco no dia  $i$  (animais em perigo de vida ou de extravio durante o estudo populacional);  $n_i$  é o número total de animais capturados no dia  $i$ ;  $m_i$  é o número total de animais registrados e coletados no dia  $i$ ;  $r_i$  é o número total de animais soltos no dia  $i$ ;  $y_i$  é o número de indivíduos registrados e soltos no dia  $i$  e capturados depois do dia  $i$  (HEYER et al. 1994).

O reconhecimento dos espécimes recapturados foi feito no laboratório, através da comparação do desenho das coxas direita e esquerda dos indivíduos recém capturados e fotografados, com as fotos digitais dos animais já existentes no álbum. Para elaborar o álbum digital utilizou-se o programa Microsoft Word for Windows XP. As fotos de todos os animais capturados foram divididas em arquivos de acordo com o sexo, idade e padrão de pigmentação das coxas (linhas, manchas e pontos). Para facilitar a identificação, os desenhos foram considerados da seguinte maneira: a linha central foi considerada linha 0, as abaixo desta foram consideradas, -1, -2... e as acima desta foram consideradas +1, +2... (Fig. 2). As fotos foram divididas com base nestes desenhos, por exemplo, se a linha 0 e/ou as outras eram inteiras ou seccionadas, se estavam presentes ou ausentes, se haviam pontos ou manchas além das linhas.

## RESULTADOS

No período do experimento foram coletados 110 animais: 49 machos, 31 fêmeas e 30 juvenis, que foram identificados individualmente com base no padrão de manchas, linhas e pontos existentes na parte interna das coxas. Este método de reconhecimento simples foi aplicável nos machos, fêmeas e nos juvenis porque todos mostraram o padrão de desenhos nas coxas de ambas as pernas. A documentação dos indivíduos

pré e pós-metamorfoseados possibilitou observar que as marcas nas coxas dos animais desta espécie estão definidas antes da metamorfose se completar (Fig. 3a-b), se mantendo estáveis até o animal atingir a idade adulta (4a-d).

A grande variabilidade dos desenhos nas coxas proporcionou identificação inequívoca, por isso os animais marcados tiveram 100% de reconhecimento quando recapturados.

A população estimada foi  $N = 129,5$  com desvio padrão  $SE N = 75,5$ . A frequência de recapturas mostrou-se alta, sendo que a maioria dos animais foi capturada apenas uma vez. Alguns machos e fêmeas foram recapturados até quatro vezes e os juvenis, embora tenham sido a categoria com menor número de indivíduos coletados ( $n = 30$ ), foram recapturados até cinco vezes (Fig. 5). Entre os animais registrados foram recapturados 13 machos (26,5%), oito fêmeas (25,8%) e cinco juvenis (16,7%) (Fig. 6).

Registrou-se deslocamento entre as poças pelos animais identificados pelos números 2 (B1 para B2), 4 (B1 para B2), 20 (B1 para B2 e volta para B1), 35 (B2 para B1), 51 (B1 para B2) e 72 (B4 para B1).

A efetividade deste método é demonstrada com o indivíduo número 11 da poça B1, que foi coletado cinco vezes durante o período do estudo, sendo juvenil na primeira e segunda capturas (Fig. 4a-d).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Em estudos populacionais, os modelos de marcação e recaptura assumem que: (1) a amostra tomada inicialmente é representativa da população inteira (não baseada em idade ou sexo); (2) todos os animais capturados na amostra inicial são marcados e as marcas têm que ser permanentes e registradas corretamente; (3) os animais marcados são soltos e distribuídos aleatoriamente na população; (4) a marcação não afeta a probabilidade de recaptura ou sobrevivência (ou seja, animais marcados e não marcados têm a mesma probabilidade de serem capturados). Para que um trabalho com parâmetros populacionais apresente bons resultados, é preciso observar que nenhum destes pré-requisitos seja violado (DONNELLY et al., 1994). Este método inicialmente usado como controle para o método "toe clipping", (HERO, 1989; DONNELLY et al., 1994) mostrou-se mais eficiente. O método "toe clipping" apresentou algumas falhas por que *Pseudis cardosoi* perde facilmente a primeira falange dos dedos, que se regenera facilmente (obs. pess.). Não está esclarecido como *P. cardosoi* perde a primeira falange dos dedos, mas supomos que isso possa acontecer em ataques de predadores.

O método fotográfico foi de fácil execução. Cada foto demorou cerca de um minuto para ser feita. O método foi inequívoco em relação aos animais marcados e o número de recapturas foi alto. Acredita-se que o número de recapturas foi limitado por alguns fatores, tais como: a) alto índice de predação nas poças estudadas, por estarem em campo limpo; b) pelo campo sofrer queimadas frequentes; c) por a população estudada ser aberta, d) pela flutuação da população durante as coletas em diferentes épocas do ano. O hábito aquático ou fossorial pode dificultar a frequência de recapturas (HEYER et al., 1994).

A frequência de recapturas de machos e fêmeas foi parecida, mas os juvenis apresentaram frequência menor. Isto pode ter ocorrido porque anfíbios anuros são muito sensíveis a fatores externos e a predação durante a fase da metamorfose e no estágio juvenil (DUELLMAN e TRUEB, 1986; HEYER et al., 1994).

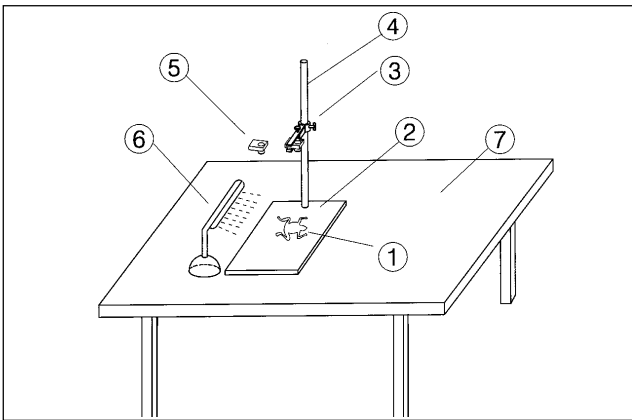
Estudos de populações usando métodos fotográficos têm sido praticados na última década (e.g., WINKLER e HEUNISCH, 1997; MEYER e GROSSE, 1997; STREICH et al., 1997), porém a maioria dos animais estudados apresentou mudanças na pigmentação fotografada e/ou a pigmentação estava presente apenas nos machos, o que levou os pesquisadores a fotografarem outra parte do corpo do animal como controle. No estudo de populações de *P. cardosoi* não ocorreram estes problemas, pois as manchas permaneceram inalteradas desde a metamorfose, e estiveram presentes tanto em machos quanto em fêmeas.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Wolf Engels (Tübingen) pelo apoio durante os trabalhos de campo e no LPB. Ao Dr. Marcos Di-Bernardo (Porto Alegre) pelas sugestões, leitura do manuscrito e pelo suporte com o material coletado. A Fernando Poli, Olaf Beckmann, Birgit Pelz pelo auxílio no campo e a Werner Ebner pelo desenho gráfico, e a dois revisores anônimos pela leitura do artigo. O trabalho foi financiado pelo CNPq processo n° 132548/2003-8 e DLR-BMBF (projeto 01LT0011/7).

#### REFERÊNCIAS

- BERTOLETTI, J. J.; TEIXEIRA, M. B. Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza Pró-Mata: Termo de Referência. **Divulgações do Museu de Ciências e Tecnologia – UBEA/PUCRS**, Porto Alegre: EDIPUCRS, v. 2, p. 1-47, 1995.
- BOOMSMA, J. J.; ARNTZEN, J. W. Abundance, growth, and feeding of natterjack toads (*Bufo calamita*) in a 4-year-old artificial habitat. **Journal Applied Ecology**, Oxford, v. 22, p. 395-405, 1985.
- BRANDÃO, R. A. et al. Observations on the ecology of *Pseudis bolbodactyla* (Anura, Pseudidae) in central Brazil. **Phyllomedusa**, Belo Horizonte, v. 2, n. 1, 2003.
- DARST, C. R.; CANNATELLA, D. C. Novel relationships among hylid frogs inferred from 12S and 16S mitochondrial DNA sequences, **Molecular Phylogenetics and Evolution**. **Section of integrative Biology and Texas Memorial Museum**, Austin, v. 31 n. 3 p. 462-475, 2004.
- DONNELLY, M. A.; GUYER, C. Estimating population size. In HEYER, W. R. et al. **Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians**. London: Smithsonian Institution Press, 1994. p. 183-205.
- DONNELLY, M. A. et al. Techniques for marking amphibians. In HEYER, W. R. et al. **Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians**. London: Smithsonian Institution Press, 1994. p. 277-284.
- DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. San Francisco: McGraw-Hill, 1986. 670 p.
- DUELLMAN, W. E. The Hylid Frogs of Middle America. **Soc. Stud. Amphib. Reptiles**. Contributions in Herpetology [s.l.], n. 18: p. 1-1180, 2001.
- FROST, D. R. Amphibian species of the world. On line. Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>>. Acesso em: 20 dez. 2004.
- HERO, J. M. A simple code for toe clipping anurans. **Herpetological Review**, New Haven, n. 20, p. 66-67, 1989.
- HEYER, W. R. et al. **Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians**. London: Smithsonian et al. Institution Press, 1994. p. 277-284.
- KUHN, J. Methoden der Anuren-Markierung für Freilandstudien: Übersicht-Knie-Ringetiketten-Erfahrungen mit der Falangenamputation. **Feldherpetologie**, Magdeburg, n. 1, p. 177-192, 1994.
- KWET, A. The genus *Pseudis* (Anura: Pseudidae) in Rio Grande do Sul, southern Brazil, with description of a new species. **Amphibia-Reptilia**, Leiden, n. 21, p. 39-55, 2000.
- KWET, A. **Frösche im brasilianischen Araukarienwald: Diversität, Reproduktion und Ressourcenaufteilung**. Münster: Natur und Tier-Verlag, 2001. 192 p.
- KWET, A.; DI-BERNARDO, M. **Pró-Mata – Anfíbios. Amphibien. Amphibians**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 1999. 107 p.
- MCCARTHY, K. M.; PARRIS, K. M. Clarifying the effect of toe clipping on frog bayesian statistics. **Journal of Applied Ecology**, London, n. 41, p. 780-786, 2004.
- MEYER, F.; GROSSE, W. R. Populationökologische Studien an Amphibien mit Hilfe der fotografischen Individualerkennung: Übersicht zur Methodik und Anwendung bei der Kreuzkröte (*Bufo calamita*). **Mertensiella**, Bonn, n. 7, p. 79-92, 1997.
- SINSCH, U. Structure and dynamic of a natterjack toad meta-population (*Bufo calamita*). **Oecologia**, Berlin, n. 90, p. 489-499, 1992.
- STREICH, W. J. et al. Computergestützte Bildanalyse von Fleckenmustern der Rotbauchunke (*Bombina bombina*). **Mertensiella**, Bonn, n. 7, p. 93-102, 1997.
- TEJEDO, M. Fighting for females in the toad *Bufo calamita* is affected by the operational sex ratio. **Animal Behavior**, London, n. 36, p. 1765-1769, 1988.
- VAN GELDER, J.; STRIJBOSCH, H. Marking amphibians: effects of toe clipping on *Bufo bufo* (Anura: Bufonidae). **Amphibia-Reptilia**, Leiden, n. 17, p. 169-174, 1996.
- WINKLER, C.; HEUNISCH, G. Fotografische Methoden der Individualerkennung bei Bergmolch (*Triturus alpestris*) und Fadenmolch (*T. helveticus*) (Urodela, Salamandridae). **Mertensiella**, Bonn, n. 7, p.71-77, 1997.



**Fig. 1.** Montagem com a câmara fotográfica digital, para fotografar as coxas de *Pseudis cardosoi*. 1. Exemplar de *Pseudis cardosoi* em posição ventral, 2. fundo contrastante, 3. suporte para câmara fotográfica, 4. barra de sustentação, 5. câmara digital, 6. fonte de luz, 7. mesa de trabalho.



**Fig. 2.** Método de leitura das linhas de pigmentação das coxas de *Pseudis cardosoi*.

a

**Fig. 3.** Exemplar nº 93 de *P. cardosoi*: **a.** capturado em 5.11.2003, em metamorfose com as manchas nas coxas já definidas; **b.** recapturado em 02.12.2003, com a metamorfose completa.

**Fig. 4.** Exemplar nº 11 de *P. cardosoi*: **a.** capturado em 04.08.2003, na fase juvenil; **b.** recapturado em 01.10.2003, com dimorfismo sexual, fêmea; **c.** recapturado em 08.11.2003, na fase adulta; **d.** recapturado em 02.12.2003, na fase adulta.

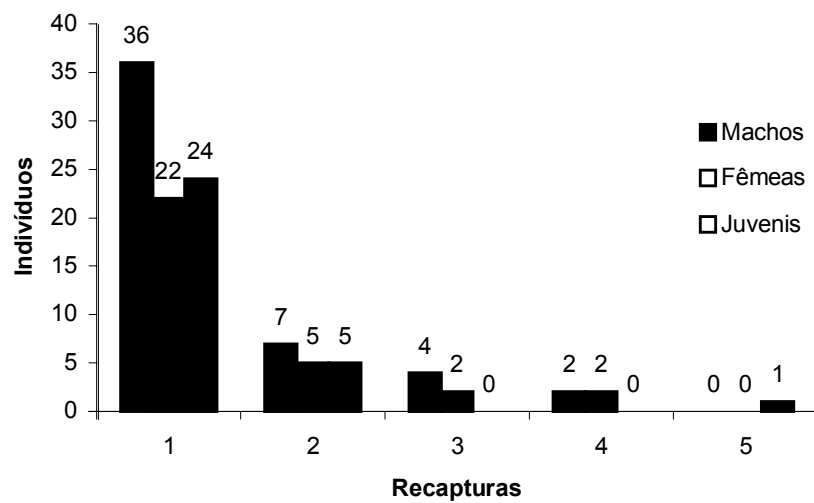


Fig. 5. Frequências de recapturas de machos, fêmeas e juvenis na Fazenda Três Estrelas.

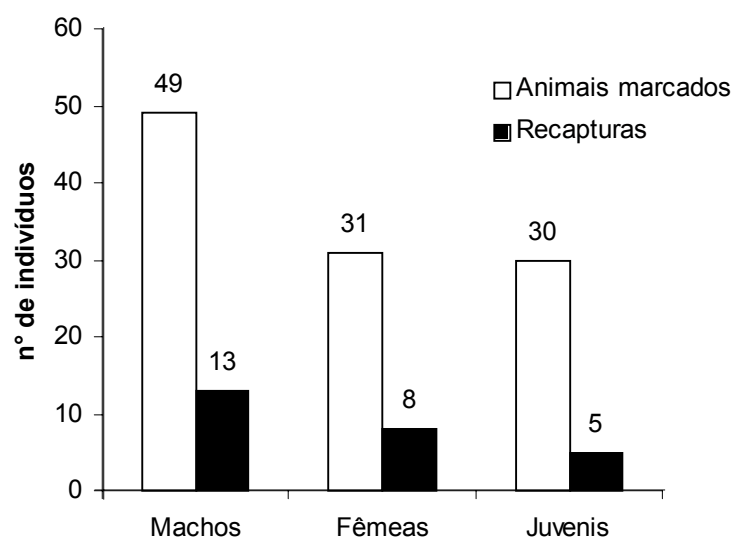


Fig. 6. Frequências de recapturas de *Pseudis cardosoi* na Fazenda Três Estrelas, usando o método “padrão das coxas” (machos: n = 49; fêmeas: n = 31; juvenis: n = 30).