HERPETOLOGIA BRASILEIRA



Volume 2 - Número 1 - Março de 2013

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA

HERPETOLOGIA BRASILEIRA

Uma Publicação da Sociedade Brasileira de Herpetologia

INFORMAÇÕES GERAIS

A revista eletrônica *Herpetologia Brasileira* é quadrimestral (com números em março, julho e novembro) e publica textos sobre assuntos de interesse para a comunidade herpetológica brasileira. Ela é disponibilizada apenas online, na página da Sociedade Brasileira de Herpetologia; ou seja, não há versão impressa em gráfica. Entretanto, qualquer associado pode imprimir este arquivo.

SEÇÕES

Notícias da Sociedade Brasileira de Herpetologia: Esta seção apresenta informações diversas sobre a SBH e é de responsabilidade da diretoria da Sociedade.

Notícias Herpetológicas Gerais: Esta seção apresenta informações e avisos sobre os eventos, cursos, concursos, fontes de financiamento, bolsas, projetos etc. de interesse para nossa comunidade.

Notícias de Conservação: Esta seção apresenta informações e avisos sobre a conservação da herpetofauna brasileira ou de fatos de interesse para nossa comunidade.

Obituários: Esta seção apresenta artigos avisando sobre o falecimento recente de um membro da comunidade herpetológica brasileira ou internacional, contendo uma descrição de sua contribuição para a herpetologia.

Resenhas: Esta seção apresenta textos que resumem e avaliam o conteúdo de livros de interesse para nossa comunidade.

Trabalhos Recentes: Esta seção apresenta resumos breves de trabalhos publicados recentemente sobre espécies brasileiras, ou sobre outros assuntos de interesse para a nossa comunidade, preferencialmente em revistas de outras áreas.

Mudanças Taxonômicas: Esta seção apresenta uma lista descritiva das mudanças na taxonomia da herpetofauna brasileira, incluindo novas espécies e táxons maiores, novos sinônimos, novas combinações e rearranjos maiores.

Métodos em Herpetologia: Esta seção apresenta descrições e estudos empíricos relacionados aos diversos métodos de coleta e análise de dados, representando a multidisciplinaridade da herpetologia moderna.

Ensaios & Opiniões: Esta seção apresenta ensaios históricos e biográficos, opiniões sobre assuntos de interesse em herpetologia, descrições de instituições, grupos de pesquisa, programas de pós-graduação etc.

Notas de História Natural: Esta seção apresenta artigos curtos que, preferencialmente, resultam de observações de campo, de natureza fortuita, realizadas no Brasil ou sobre espécies que ocorrem no país. Os artigos não devem versar sobre (1) novos registros ou extensões de área de distribuição, (2) observações realizadas em cativeiro ou (3) aberrações morfológicas.

Editores Gerais:	Taran Grant Marcio Martins
Notícias da SBH:	Fausto Barbo Giovanna Montingeli
Notícias Herpetológicas Gerais:	Cinthia Aguirre Brasileiro Paulo Bernarde
Notícias de Conservação:	Ariadne Angulo Débora Silvano Yeda Bataus
Obituários:	Francisco L. Franco Marinus Hoogmoed
Resenhas:	José P. Pombal Jr. *(anfíbios)* Renato Bérnils *(répteis)*
Trabalhos Recentes:	Carlos Jared Ermelinda Oliveira Fernando Gomes João Alexandrino Reuber Brandão
Mudanças Taxonômicas:	José A. Langone *(anfíbios)* Paulo C. A. Garcia *(anfíbios)* Paulo Passos *(répteis)*
Métodos em Herpetologia:	Camila Both Denis Andrade Felipe Grazziotin Felipe Toledo
Ensaios & Opiniões:	Julio C. Moura-Leite Luciana Nascimento Teresa Cristina Ávila-Pires
Notas de História Natural:	Cynthia Prado Marcelo Menin Marcio Borges-Martins Mirco Solé Paula Valdujo Ricardo Sawaya
Contato para Publicidade:	Magno Segalla

Sociedade Brasileira de Herpetologia
www.sbherpetologia.org.br

Presidente:	Marcio Martins
1º Secretário:	Giovanna Gondim Montingelli
2º Secretário:	Fausto Erritto Barbo
1º Tesoureiro:	Vivian Carlos Trevine
2º Tesoureiro:	Roberta Graboski Mendes
Conselho:	Hussam El Dine Zaher, José Perez Pombal Júnior, Magno Vicente Segalla, Ulisses Caramaschi, Taran Grant

© Sociedade Brasileira de Herpetologia

Diagramação:	Airton de Almeida Cruz
Foto da Capa:	*Dendropsophus haddadi,* Acuipe, Ilhéus, BA (Foto: M. Solé).

HERPETOLOGIA BRASILEIRA

Uma Publicação da Sociedade Brasileira de Herpetologia

ÍNDICE

Notícias da Sociedade Brasileira de Herpetologia 1

Notícias Herpetológicas Gerais 2

Notícias de Conservação 3

Resenhas 5

Trabalhos Recentes 9

Métodos em Herpetologia 12

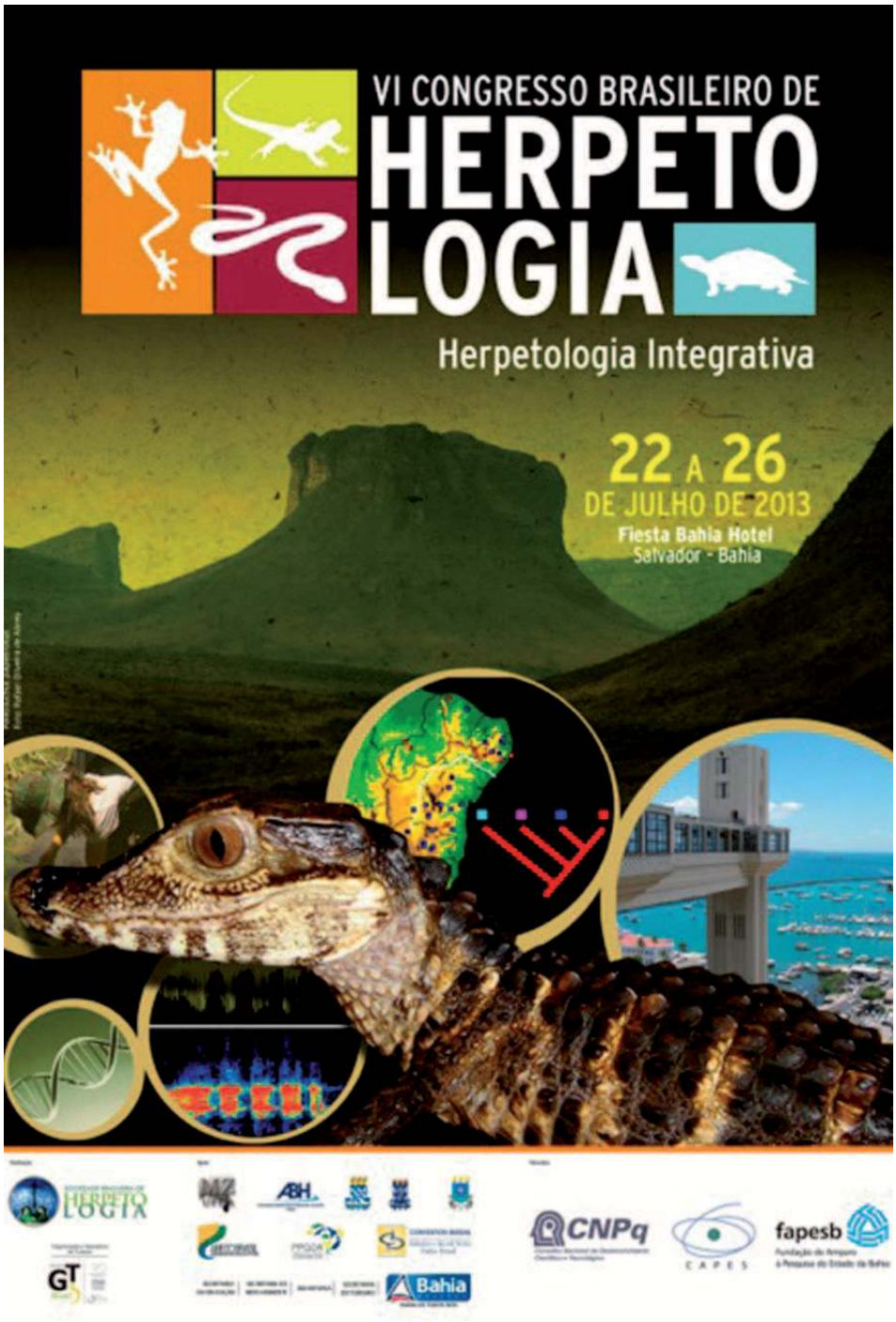
Notas de História Natural 18



Myersiella microps, Serra da Bocaina, SP (Foto: T. Grant).

VI CONGRESSO BRASILEIRO DE HERPETOLOGIA – VI CBH

Conforme anunciado anteriormente, o VI Congresso Brasileiro de Herpetologia será realizado na cidade de Salvador, Bahia, entre os dias 22 e 26 do próximo mês de julho. A programação contará com seis conferências, oito simpósios, oito minicursos, workshops, leilão de obras relacionadas à herpetologia, e o tradicional concurso de vocalização, dentre outras atividades. As normas para a submissão de trabalhos na forma de pôsteres ou comunicações orais estão disponíveis para consulta. ***Importante:*** o prazo final para a submissão de trabalhos se encerra no dia 7 de abril! O terceiro período de inscrições se encerra no dia 31 de maio e a SBH oferece descontos aos sócios quites com a anuidade de 2013. A programação completa, normas para envio de resumos e informações sobre as inscrições estão disponíveis no site http://www.cbh13.com.br.



Participação confirmada

— Miguel Vences – Technische Universität Braunschweig (Alemanha)
— Anthony Herrel – Museum National d'Histoire Naturelle (França)
— Luis Cesar Schiesari – Universidade de São Paulo (Brasil)
— Ulisses Caramaschi – Museu Nacional – Universidade Federal do Rio de Janeiro (Brasil)
— Miguel Trefaut Urbano Rodrigues – Universidade de São Paulo (Brasil)

PUBLICADA CARTA NA REVISTA NATURE SOBRE ABLAÇÃO DE DEDOS E ARTELHOS

Como continuidade à carta enviada ao ICMBio, pela SBH, sobre a posição da comunidade herpetológica brasileira a respeito da possibilidade de proibição da técnica de ablação de dedos e artelhos no Brasil (ver o número anterior da Herpetologia Brasileira), foi publicada na revista Nature de 17 de janeiro de 2013 uma carta externando a preocupação de cientistas brasileiros, incluindo o Presidente da SBH, sobre esse assunto. Tal iniciativa partiu dos alunos associados ao laboratório do Dr. Ricardo J. Sawaya, da UNIFESP, Diadema, e representou uma excelente oportunidade de alertar um público enormemente mais amplo sobre a questão.



Leptodactylus mystacinus, Pirenópolis, GO (Foto: J. P. Pombal Jr.).

XXIV CONGRESSO INTERNACIONAL DE BIACÚSTICA

Como já divulgado no número anterior da Herpetologia Brasileira, o evento ocorrerá entre 8 e 13 de setembro de 2013, na Pousada Pirineus em Pirenópolis, Goiás. O programa inclui palestras, mesas-redondas, apresentações de trabalhos (posters e orais), workshops e mini-cursos. A submissão de resumos se encerrará em 15 de abril de 2013. Maiores informações no site do evento: www.ibacbrazil.com/Home.html

XI CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL

O evento ocorrerá entre 15 e 19 de setembro de 2012, em Porto Seguro, Bahia. A data para a submissão dos resumos é 30 de abril de 2013. Os autores poderão submeter trabalhos nas seguintes áreas: Comportamento Animal, Ecologia de Interações, Ecologia de Comunidade, Ecologia de Ecossistemas, Biologia da Conservação, Ecologia da Sustentabilidade, Educação Ambiental, Ecologia da Paisagem, Ecologia Evolutiva, Ecologia Teórica, Ecologia Humana, Ecologia Urbana e Direito Ambiental. Maiores informações no site do evento: www.xceb.com.br/

2013 JOINT MEETING OF ICHTHYOLOGISTS AND HERPETOLOGISTS

Este evento inclui as principais sociedades de herpetologia e ictiologia dos Estados Unidos (American Elasmobranch Society, Society for the Study of Amphibians and Reptiles Herpetologists' League, e American Society of Ichthyologists and Herpetologists) e este ano comemorará o centésimo aniversário da Copeia. O evento ocorrerá entre 10 e 15 de Julho de 2013 em Albuquerque, Novo México, Estados Unidos. A submissão de resumos encerrará em 30 de março de 2013. Maiores informações no site do evento: www.dce.k-state.edu/conf/jointmeeting/Copeia XXX

CONCEA ABRE CONSULTA PÚBLICA SOBRE EUTANÁSIA

Em 5 de março de 2013 foi publicado edital que instituiu a Consulta Pública referente às "Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA". Tais diretrizes fazem referência às pesquisas com vertebrados de vida livre. Pessoas ou instituições interessadas em participar da Consulta Pública terão o prazo de 2 meses para apresentar sugestões ao texto "Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA". Os documentos relacionados ao edital estão disponíveis em: www.mct.gov.br/index.php/content/view/313236/Consulta_Publica.html



Leptodactylus lineatus, Ribeirão Cascalheira, MT (Foto: R. Brandão).

A COORDENAÇÃO REGIONAL DO AMPHIBIAN SPECIALIST GROUP NO BRASIL

O Amphibian Specialist Group (ASG) é uma rede global de especialistas dedicados que doam seu tempo e conhecimento para criar uma comunidade onde a prática de conservação de anfíbios avança a partir de uma base sólida de ciência. Esta rede global é composta por mais de 300 membros em mais de 40 Regiões / Países que permitem ao ASG atuar em uma escala global. O grupo foi criado em 2006 após a elaboração do Plano de Ação Global para Conservação dos Anfíbios (ACAP), quando se percebeu a necessidade de uma abordagem coordenada e unificada para Conservação de Anfíbios. Assim foram reunidos em um grupo único os esforços do Global Amphibian Specialist Group (GASG) dentro da IUCN Species Survival Commission (IUCN SSC), da Declining Amphibian Populations Task Force (DAPTF) e do Global Amphibian Assessment (GAA). Navegue pela página do ASG (www.amphibians.org) para maiores informações. No quadriênio que se iniciou em 2013, Débora Leite Silvano (deborasilvano@gmail.com) e Marcio Martins (martinsmrc@usp.br) assumiram a coordernação regional do ASG no Brasil. Atualmente, o grupo brasileiro conta com 15 pesquisadores representantes de todas as regiões do país. Durante o VI Congresso Brasileiro de Herpetologia (Salvador – BA), em julho próximo, deve acontecer a primeira reunião do grupo, que será aberta a quaisquer pessoas interessadas. A data, horário e local da reunião ainda serão confirmados.

LANÇAMENTO DE FROGLOG SHORTS

O novo boletim do ASG procura informar os membros do grupo de novidades e últimos acontecimentos. O formato de FrogLog Shorts é mais curto do que o do FrogLog, concentrando-se em novidades breves de interesse para a comunidade herpetológica. O novo boletim será divulgado quinzenalmente. Para maiores informações ou para enviar notícias para divulgação escrever para froglog@amphibians.org.

16 REUNIÃO DAS PARTES DA CONVENÇÃO DE COMÉRCIO INTERNACIONAL DE ESPÉCIES AMEAÇADAS (CITES) REALIZADA EM BANGKOK, TAILÂNDIA, DE 3 A 14 MARÇO DE 2013

Nesta reunião acordou-se combater o comércio ilegal de várias espécies ameaçadas anteriormente não contempladas na Convenção. Decidiu-se incluir em seus apêndices espécies madeireiras, marinhas e tartarugas, entre outros. Além disso, discutiram-se várias outras propostas para emendar os Apêndices I e II da CITES, incluindo várias espécies de répteis e três espécies de anfíbios (ver www.cites.org/eng/cop/16/prop/index.php). Para maiores informações sobre a reunião visite o site (www.cites.org).

RENOVAÇÃO DO FÓRUM VIRTUAL PARA AVALIAÇÃO DOS ANFÍBIOS

O fórum virtual, www.amphibians.org/redlist/forum, originalmente lançado 11 de outubro de 2011, foi renovado 1 de março 2013 para fazer com que o processo de reavaliação dos anfíbios do mundo seja mais colaborativo, eficiente e aberto. Esta versão do fórum se enquadra bem com a nova estratégia da Autoridade da Lista Vermelha para os Anfíbios, uma vez que esta estratégia visa que grupos de trabalhos regionais ou nacionais possam administrar as avaliações globais das espécies de suas áreas geográficas, assumindo desta maneira a moderação do fórum respectivo (atualmente ha um fórum ativo, mas a ferramenta está aberta para receber novos fórums regionais ou nacionais). O novo fórum é o resultado de uma parceria entre o Grupo de Especialistas para os Anfíbios (ASG pelas siglas em inglês), sua Autoridade da Lista Vermelha, e a iniciativa de ciência cidadã iNaturalist (www.inaturalist.org).

LANÇAMENTO DE AMAZING AMPHIBIANS

Amazing Amphibians é um programa do Grupo de Especialistas para os Anfíbios lançado para celebrar as diferentes espécies de anfíbios do mundo, seus hábitats e para promover o trabalho das pessoas que procuram conservá-los. Cada segunda-feira é publicada uma ficha de uma espécie diferente, a qual está diponível para ser compartilhada no seu site, em redes sociais, e por email. Amazing Amphibians é o resultado de uma parceria entre o ASG, a Comissão para a Supervivência das Espécies da UICN (IUCN SSC), AmphibiaWeb, iNaturalist, TSTP.tv, ARKive, Amphibian Survival Alliance, Amphibian Ark e Synchronicity Earth. O site está disponível em www.amphibians.org/amazing-amphibians.

NOVAS UCS IMPORTANTES PARA A HERPETOFAUNA ESTÃO EM PROCESSO DE CRIAÇÃO NO CERRADO

No âmbito do Programa Cerrado Sustentável do Governo Federal, o estado de Goiás está realizando estudos para a ampliação do Sistema Estadual de Unidades de Conservação com a criação de unidades de proteção integral. A ONG Funatura foi selecionada para conduzir os estudos (veja mais informações em http://armazendigital.com.br/funatura). Das 15 áreas prioritárias foram selecionadas três que tiveram os estudos aprofundados e foram elaboradas propostas de criação de Parques estaduais. Os três Parques Estaduais propostos (São Bartolomeu, Rio São Félix e Serra da Prata) localizam-se no nordeste do Estado em região com alta riqueza de biodiversidade. Algumas destas áreas contêm extensões expressivas de mata seca, que é um ambiente extremamente importante para a fauna de lagartos. Mais de 50% da herpetofauna aí registrada é endêmica do Cerrado, com destaque para as espécies *Trachycephalus mambaiensis, Gymnodactylus* aff. *geckoides, Mabuya* aff. *frenata,* e *Coleodactylus* cf. *brachystoma,* que não são conhecidas de nenhuma unidade de conservação; *Leptodactylus tapiti,* uma espécie descrita em 1978, conhecida apenas do PN Chapada dos Veadeiros e com poucos exemplares coletados, que teve agora seu primeiro registro fora dos limites do Parque, na área de São Bartolomeu; e *Phyllomedusa oreades,* conhecida de poucas localidades no Estado de Goiás e no Distrito Federal, sempre associada a riachos temporários em regiões de campo

rupestre. *Lygodactylus klugei* é uma espécie da Caatinga, com apenas um registro documentado nas florestas estacionais deciduais de São Domingos, foi registrada na região de São Bartolomeu, tendo sua distribuição conhecida estendida para o oeste. As consultas públicas para apresentação e discussão das propostas dos três parques serão realizadas pela Semarh Goiás, no período de 23 a 26 de abril de 2013, nos municípios de Nova Roma, Monte Alegre de Goiás, Cavalcante e Alto Paraíso de Goiás. Os documentos referentes às propostas, estudos técnicos e localização podem ser acessados no link acima.



Amphisbaena trachura, São Jerônimo, RS (Foto: T. Grant).



Crotalus durissus, Caraça, MG (Foto: J. P. Pombal Jr.).

Köhler, Gunther. 2011. Amphibians of Central America. Herpeton Verlag, Offenbach. 379 pp. ISBN 3-936180-33-4

A América Central é uma região de raro desafio para os cientistas. Sua complexa história de formação geológica, bem como a presença de diversas fisionomias vegetais (Köhler, 2008) resultou em numerosas e diferentes histórias evolutivas para os grupos animais que habitam a região, a exemplo dos anfíbios (Savage, 1982). Assim sendo, é com grata surpresa que descobri o livro *Amphibians of Central America,* de Gunther Köhler, buscado bibliografias para minha tese de doutoramento..

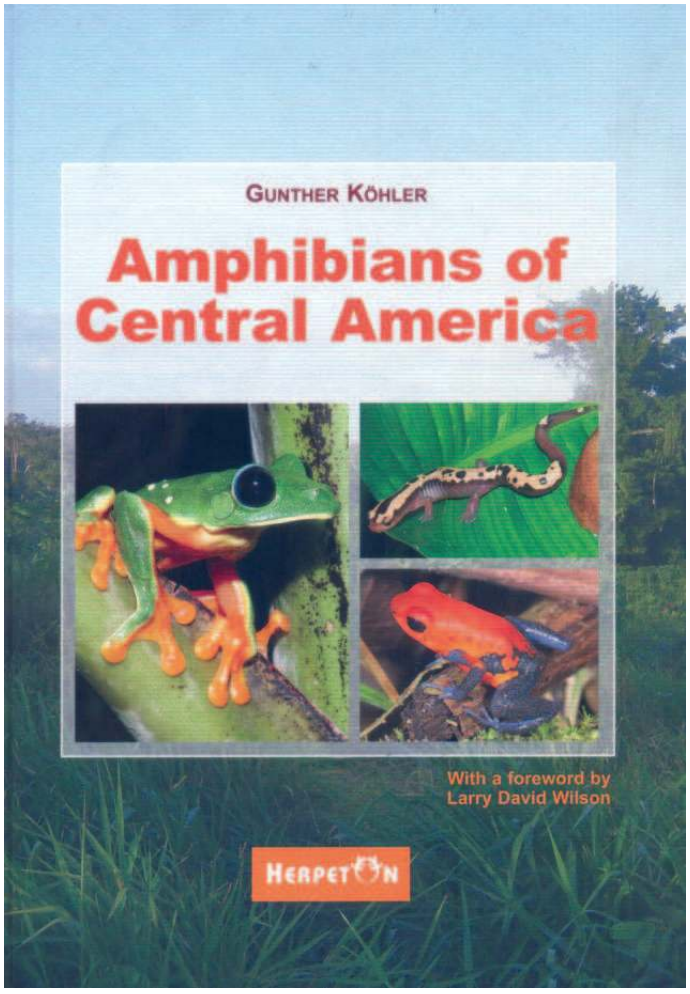
O autor Gunther Köhler é chefe do Setor de Herpetologia no Instituto de Pesquisa e Museu da Natureza Senckenberg, em Frankfurt, Alemanha, e uma autoridade na herpetofauna da América Central. Sua equipe de pesquisa tem publicado mais de uma centena de trabalhos enfocando a Herpetofauna da região (veja http://www.senckenberg.de). Entre suas obras, destaco *Reptiles of Central America* (Köhler, 2008) e o objeto desta resenha *Amphibians of Central America* (Köhler, 2011), dois guias de identificação com informações capazes de satisfazer as necessidades de cientistas e amadores interessados na natureza.

Amphibians of Central America trata dos anfíbios conhecidos no limite geográfico entre o Istmo de Tehuantepec, México, e o Chocó no Panamá. São registradas 15 espécies de cecílias (Gymnophiona), 151 de salamandras (Caudata) e 332 espécies de sapos, rãs e pererecas (Anura). A organização segue dos táxons mais amplos, as ordens, passando pelas famílias e respectivos gêneros, até os mais inclusivos, as espécies, sempre em ordem alfabética. Vale ressaltar a atualização dos nomes, que seguem as últimas propostas nomenclaturais oriundas de estudos filogenéticos.

A organização do *Amphibians of Central America* pode ser classificada como tradicional para guias de campo. Começa com uma breve introdução sobre a anurofauna da América Central, a taxonomia seguida pelo autor e a importância desta fauna devido ao seu grau de ameaça de extinção atual. Destaca-se um diagrama com as ordens, as famílias e gêneros, respectivamente, com o número de espécies de cada gênero destacado entre parênteses. São encontrados a seguir textos simples e bem explicativos sobre o ambiente e o clima da região geográfica de abrangência do livro. Todas as seções são ricamente ilustradas com fotos (ambientes, espécies e caracteres), mapas e gráficos que enriquecem o entendimento e a experiência do leitor. As cecílias, as salamandras e os anuros, nesta sequencia, são apresentados aos leitores por meio de descrições simples dos táxons e sua taxonomia, fotos e ilustrações de espécimes e caracteres diagnósticos, mapas de distribuição e uma chave dicotômica para identificação dos mesmos. Importante ressaltar aqui dois aspectos do livro: o conteúdo e as ilustrações. O primeiro, digno de elogios, é o evidente enorme esforço do autor para organizar as informações por ele julgadas essenciais para cada nível hierárquico de família, gênero ou espécie: referência da publicação original, localidade-tipo, distribuição com dados de elevação, biometria e lista de sinonímia e bibliografia básica. Chaves dicotômicas claras e informativas para anfíbios são difíceis de serem produzidas e certamente este é um ponto a ser destacado no livro do Dr. Köhler. Além disto, existe um item chamado "Leitura Adicional" ao final de cada táxon supraespecífico, com referências para estudos complementares. Quanto às ilustrações: são abundantes, belíssimas e funcionais ao longo de todo o texto, enriquecendo visualmente a identificação dos espécimes e suas características listadas.

Ao final dos anfíbios anuros existe uma seção neste livro dedicada exclusivamente aos girinos da América Central, com desenhos esquemáticos das características diagnósticas gerais para girinos e uma tabela com espécies ainda não descritas ou descritas insatisfatoriamente. Esta seção se inicia com uma breve introdução sobre o tema e explicações sobre a terminologia adotada. O corpo principal da abordagem dos girinos é uma chave dicotômica com fotos e desenhos que ilustram a maioria das quase 70 espécies abordadas neste item.

As duas últimas seções do livro tratam de temas não muito comuns nos guias de campo, as importantes discussões sobre o declínio e extinção de anfíbios e sua importância como bioindicadores. Nas duas últimas décadas temos experimentado uma intensa discussão sobre o grau de ameaça das espécies de anfíbios devido a diversos fatores ambientais e antrópicos e sua consequente necessidade de conservação (ver Verdade *et al.,* 2012). Citações sobre uso e modificações de habitat,



espécies exóticas, mudanças climáticas, redescobrimento de espécies, contaminações por fungos, educação ambiental e programas de monitoramento compõem alguns dos diversos temas desta seção. Por fim, temos um glossário e um índice remissivo que podem auxiliar o leitor no uso desta organizada obra.

O Brasil é um país classificado como megadiverso e seu território de dimensão continental abriga alguns táxons com distribuição que engloba a maioria do Neotrópico (e.g., gêneros *Trachycephalus* Tschudi e *Atelopus* Duméril & Bibron), incluindo a América Central. As coleções brasileiras abrigam um número reduzido de espécimes da América Central e material bibliográfico rico em conteúdo e ilustrações pode auxiliar no desenvolvimento de estudos de táxons que abrangem também este território. Assim sendo, com 930 figuras coloridas, 92 desenhos e diagramas, e 177 mapas, além de uma organização e conteúdo bem trabalhados, o pictórico *Amphibians of Central America* de Gunther Köhler é um livro que devemos manter ao alcance das mãos ao consultar a fauna de anfíbios da América Central.

REFERÊNCIAS

Köhler, G. 2008. Reptiles of Central America. 2 ed. Herpeton, Offenbach. 360 pp.

Savage, J.M. 1982. The enigma of the Central American Herpetofauna: dispersal or vicariance? Annals of the Missouri Botanical Garden, 69(3):464-547.

Verdadea, V.K.; Valdujo, P.H.; Carnaval, A.C.; Schiesari, L.; Toledo, L.F.; Mott, T.; Andrade, G.V.; Eterovick, P.C.; Menin, M.; Pimenta, B.V.S.; Nogueira, C.; Lisboa, C.S.; Paula, C.D. & Silvano, D.L. 2012. A leap further: the Brazilian amphibian conservation action plan. Alytes, 29(1-4):28-43.

Ivan Nunes
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional. Departamento de Vertebrados, Setor de Herpetologia. Quinta da Boa Vista, São Cristóvão. 20940-040, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. E-mail: ivan.nunes@yahoo.com.br.

Gallo, V., H. M. A. Silva, P. M. Brito & F. J. Figueiredo. *Paleontologia de Vertebrados: Relações entre América do Sul e África*. Rio de Janeiro: Interciência, 1ª Edição, 2012. 336 p.

O livro "Paleontologia de Vertebrados: relações entre América do Sul e África" apresenta 352 páginas divididas em 12 capítulos que abarcam basicamente os padrões de distribuição dos vertebrados passando pelas fases pré-rifte, rifte e pós-rifte de formação dos continentes. O livro representa um esforço conjunto de quatro pesquisadores brasileiros de conhecido renome no meio acadêmico (Valéria Gallo, Hilda Maria A. Silva, Paulo M. Brito e Francisco J. Figueiredo) com o intuito de abordar a problemática das relações biogeográficas entre África e América do Sul.

Dentre os grupos de vertebrados em análise, figuram elasmobrânquios, peixes de água doce e salgada, temnospôndilos, cinodontes, tartarugas, crocodilos, pterossauros e dinossauros, sendo os capítulos que abordam cada um destes grupos, respectivamente, antecedidos por uma introdução à Biogeografia Histórica (capítulo 1, páginas 1-14). Sua abordagem, como objeto principal de estudo, objetiva situar o leitor a partir da conceituação desta Ciência e reconhecimento dos padrões de distribuição geográfica e organização espacial dos organismos através do tempo, a fim de que tais padrões possam ser mais facilmente assimilados quando os subsequentes grupos de vertebrados são particularmente enfocados.

O livro então segue a interessante sequência traçada com a intenção de fazer com que o leitor acompanhe o desenrolar destes padrões desde a Pangeia, passando pelo Gondwana até a formação dos continentes. A abordagem tem início com os elasmobrânquios paleozoicos e mesozoicos (capítulo 2, páginas 21-56), passando pelos temnospôndilos do Brasil (capítulo 3, páginas 69-89) e cinodontes do Triássico da América do Sul e África (capítulo 4, páginas 99-122). O capítulo 5, "A evolução geodinâmica da margem atlântica brasileira no intervalo Juro-Cretáceo", páginas 131-146, fugindo ao padrão de abordagem dos grupos de vertebrados e seus padrões biogeográficos de distribuição, visa, conforme relatado, *fornecer uma vista integrada da abertura do Oceano Atlântico Sul durante o intervalo Jurássico-Cretáceo, provendo uma visão global atualizada baseada em reconstruções recentes*. Aspectos tafonômicos também são



discutidos no capítulo 6, tendo como objeto a paleoictiofauna do Jurássico da Bacia do Parnaíba e comparação estratinômica com as bacias da América do Sul e África (páginas 151-170). O livro segue apresentando a paleoictiofauna marinha de ambos os continentes (capítulo 7, páginas 175-197), os peixes de água doce (capítulo 8, páginas 207-218), filogenia e biogeografia de Pelumedusoides (capítulo 9, páginas 225-240), diversidade e distribuição de Crocodylomorpha (capítulo 10, páginas 243-270), e, finalmente, os padrões de distribuição geográfica dos Pterodactyloidea (capítulo 11, páginas 279-292) e dinossauros (capítulo 12, páginas 299-315).

Aos herpetólogos, vale ressaltar, dentre os capítulos abrangidos pelo volume, o estudo revisivo e paleogeográfico dos temnospôndilos brasileiros, importantes para a compreensão do padrão de distribuição deste grupo na Pangeia (capítulo 3), o estudo filogenético e biogeográfico de tartarugas pleurodiras, no qual os autores utilizam-se de uma super-árvore para sustentar a hipótese biogeográfica baseada em eventos de vicariância para a evolução do clado (capítulo 9), a abordagem a aspectos evolutivos e biogeográficos dos crocodilomorfos, abarcando filogenia, ecologia e fisiologia, com o intuito de enfatizar o papel deste grupo na compreensão da sequência de fragmentação do Gondwana (capítulo 10), e finalmente aspectos biogeográficos da distribuição de pterossauros, importante grupo de répteis voadores do Mesozoico (capítulo 11), e dinossauros (capítulo 12).

É digno de nota o empenho destes quatro autores e idealizadores do volume, sabendo que este é um assunto que converge o interesse de várias áreas dentro da Paleontologia de vertebrados. Deste modo, o volume em questão torna-se um importante objeto de consulta para paleontólogos interessados nas diferentes explicações e implicações das distribuições geográficas de seus respectivos grupos dentro do contexto das relações América do Sul-África. Certamente, uma lacuna na literatura acadêmica preenchida com reconhecida competência.

Destacamos a valiosa contribuição de cada um dos autores/idealizadores do volume, bem como a de diversos autores especialistas nos diferentes grupos de vertebrados e oriundos de diversas instituições de ensino superior. Os editores Valéria Gallo, Paulo Britto e Francisco Figueiredo, professores adjuntos do Departamento de Zoologia da UERJ, em parceria com Hilda Maria da Silva, doutora em Ecologia e Evolução pela UERJ, têm investido na edição de volumes voltados para a Paleontologia, e uma vez que há grande carência de livros sobre este tema no Brasil, esta atitude é meritória. Prova disto é o livro publicado pelo grupo em 2006 "Paleontologia de vertebrados – grandes temas e contribuições científicas" que contempla, além de dez artigos completos de trabalhos apresentados no III Simpósio Brasileiro de Paleontologia de Vertebrados, temas teóricos como diferentes técnicas aplicadas no estudo dos fósseis, sistemática e filogenia de diferentes grupos. Aos herpetólogos, estudiosos dos grupos recentes ou não, ambos os volumes são de grande importância, merecendo figurar como livros de prateleira para consultas recorrentes. Resta-nos agora aguardar qual será a próxima empreitada destes pesquisadores que tanto têm buscado a produção de obras de reconhecido valor acadêmico com selo de qualidade nacional.

Fabiana R. Costa[1] & Ivan Nunes[2]

[1] Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Departamento de Geologia e Paleontologia, Setor de Paleovertebrados, Laboratório de Sistemática e Tafonomia de Répteis Fósseis. 20940-040 Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: fabiana.costa@ufrj.br.

[2] Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Departamento de Vertebrados, Setor de Herpetologia. 20940-040 Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: ivan.nunes@yahoo.com.br.

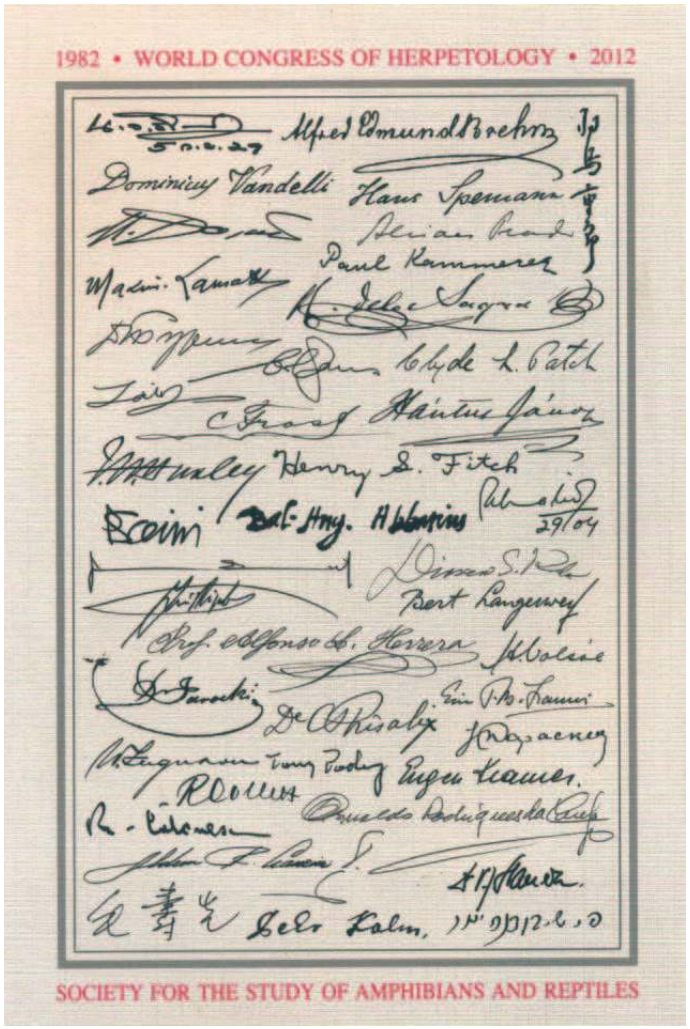
Contributions to the History of Herpetology. Volume 3, Organizado por Kraig Adler. Publicado pela Society for the Study of Amphibians and Reptiles, ISBN:978-0-91684-82-3. Data da publicação: 8 agosto de 2012. Local da publicação Vancouver, British Colombia, Canadá. Número total de cópias impressas: 2950.

O volume 3 de "Contributions to the History of Herpetology" compreende 564 páginas e pesa 1,8 quilos. Existem três partes: (1) Herpetólogos do passado, Parte 3, de autoria de Kraig Adler (páginas 3-386); (2) Índice de Autores em Herpetologia Taxonômica, Terceira Edição, de autoria de John S. Applegarth (páginas 387-469); e (3) Linhagens Acadêmicas de Doutorados em Herpetologia, Terceira Edição, de autoria de Ronald Altig (páginas 471-564). A terceira edição é significativamente maior do que a segunda, que compreende 389 páginas no total.

Adler manteve suas biografias informativas e interessantes nesta terceira edição. Foi com grande esforço que incluiu fotografias e assinaturas de fontes difíceis de serem encontradas. Cada vinheta biográfica é agradável e descritiva.

Há dois conjuntos de vinhetas que achei cativantes a partir da minha perspectiva como pessoa interessada na história dos herpetólogos brasileiros. O primeiro conjunto de indivíduos é o de brasileiros não nativos que fizeram significativas contribuições à herpetofauna brasileira: Charles-Nicolas-Sigisbert Sonnini, páginas 38-39, em uma expedição ao Rio Negro; Willem Piso, um naturalista holandês assistido por Georg Markgraf que coletou ao longo da costa brasileira quando aquela parte do Brasil ainda estava sob domínio holandês, páginas 62-63; J.C. Mikan, páginas 63-64; Giuseppi Raddi, página 64; Johan Natterer, páginas 64-66; Jean Quoy, Paul Gaimard, Fortuné Eydoux, Louis Souleyet, Bernard Hombron, Honoré Jacquinot, páginas 75-78; Alcide d'Orbigny, páginas 94-95; John D. Haseman, página 206 (que coletou para Lawrence Griffin); Joseph R. Bailey, páginas 258-259; Carl Gans, páginas 283-285; Paul Müller, páginas 341-342. O segundo conjunto de vinhetas reúne herpetólogos brasileiros ou residente no Brasil – Otto Wucherer, página 123; Eurico Santos, página 217; Paulo Sawaya, pp. 257-258; Alcides Prado, pp. 268-269; Haroldo Travassos, página 286; e Oswaldo Rodrigues da Cunha, página 316.

A contribuição de John Applegarth é relatada da seguinte forma: "Procurei incluir todos os autores que participaram da



nomeação de um ou mais táxons, no nível de gênero ou abaixo deste, dentro das ordens viventes de anfíbios e répteis". A contribuição de Applegarth é completa – de modo que não há necessidade de recorrer às "Contributions to the History of Herpetology" volumes 1 & 2 das para acessar este material.

As "Linhagens Acadêmicas de Doutorados em Herpetologia Terceira Edição" de Ronald Altig incorpora 1.752 novos nomes à Terceira Edição. A contribuição de Altig, do mesmo modo, não requer uma nova visita às edições 1 & 2 das "Linhagens Acadêmicas".

Há uma mensagem triste aos herpetólogos do mundo nas Notas do Editor do Congresso de Herpetologia realizado em Vancouver, Canadá, em 2012. "Este é o último volume da série. Uma lista alfabética bastante ampla de todas as biografias na série de 3 volumes é fornecida nas páginas 4-6, e um índice abrangente da série inteira foi incluído no presente volume nas páginas 361-386". As três contribuições de Kraig Adler constituem claramente trabalhos de grande interesse para a comunidade herpetológica e possivelmente não serão continuados por outro herpetólogo. Quem mais está disposto a fornecer vinhetas tão interessantes aos herpetólogos do mundo? Infelizmente é provável que ninguém terá a tenacidade e habilidade de oferecer o tipo de vinheta que é a especialidade de Adler.

W. Ronald Heyer
Smithsonian Institution
National Museum of Natural History
PO Box 37012, MRC 162
Washington, DC 20013-7012
E-mail: heyerr@si.edu
Tradução do inglês para o português: Fabiana Rodrigues Costa



Itapotihyla langsdorffii, Serra Bonita, Camacan, BA (Foto: M. Solé).

Grizante, M.B., R. Brandt e T. Kohlsdorf. 2012. Evolution of body elongation in Gymnophthalmidae lizards: Relationships with climate. PLoS ONE 7(11): e49772. DOI: 10.1371/journal.pone.0049772

A evolução de formas corpóreas alongadas em vertebrados têm intrigado biólogos por décadas, sendo particularmente recorrente em Squamata. Diversos aspectos poderiam explicar como o ambiente influencia a evolução do alongamento corpóreo, mas o clima precisa ser incorporado neste cenário para avaliar como este contribui para a evolução morfológica. Parâmetros climáticos incluem temperatura e precipitação, duas variáveis que provavelmente influenciam características ambientais, incluindo textura do solo e cobertura vegetal, que por sua vez podem definir as pressões seletivas atuantes durante a evolução da morfologia. Devido ao desenvolvimento das técnicas de informação geográfica (GIS), estas variáveis podem agora ser incluídas em estudos de biologia evolutiva e foram usadas no presente estudo para testar associações entre variação em forma corpórea e clima na família de lagartos neotropicais Gymnophthalmidae. Os autores primeiro investigaram como as características morfológicas que definem a forma corpórea estão correlacionadas nestes lagartos, e então testaram a associação entre um descritor de alongamento corpóreo e o clima. As análises revelaram que a evolução de formas corpóreas alongadas em Gymnophthalmidae envolveram mudanças concomitantes em diferentes características morfológicas: o alongamento do tronco está acoplado a um encurtamento das patas e uma redução do diâmetro do corpo, e a variação gradual ao longo do eixo foi ilustrada por morfologias menos alongadas exibindo troncos mais curtos e patas mais longas. A variação identificada em formas corpóreas de Gymnophthalmidae foi associada ao clima, com as espécies de ambientes mais áridos sendo normalmente mais alongadas. A aridez é associada com altas temperaturas e baixa precipitação, o que afeta características ambientais adicionais, incluindo a estrutura do habitat. Esta característica pode influenciar a evolução de formas corpóreas porque ambientes contrastantes provavelmente impõem demandas distintas para o desempenho dos organismos em diferentes atividades, tais como locomoção e termorregulação. O presente estudo estabelece uma conexão entre a morfologia e um componente natural amplo, o clima, e introduz novas questões sobre a distribuição espacial da variação morfológica em Squamata.

Llewelyn, J., B.L. Phillips, G.P.Brown, L. Schwarzkopf, R.A. Alford e R. Shine. 2011. Adaptation or preadaptation: why are keelback snakes (*Tropidonophis mairii*) less vulnerable to invasive cane toads (*Bufo marinus*) than are other Australian snakes? Evolutionary Ecology, 25:13–24. DOI: 10.1007/s10682-010-9369-2

A invasão de espécies exóticas em um dado ambiente expõe as espécies nativas a uma gama de novas interações ecológicas. Um dos exemplos mais recentes é dado o caso da introdução de *Rhinella marina* na Austrália. Esse sapo-cururu amazônico, introduzido na Oceania em meados da década de 1930, vem sendo considerado uma praga, causando danos às espécies da fauna australiana que tentam predá-lo. É o caso de muitas serpentes batracófagas, incapazes de sobreviver à toxicidade do seu veneno. Surpreendentemente, uma serpente australiana, *Tropidonophis mairii,* continua presente nas áreas infestadas por esse sapo, sendo relativamente resistente ao seu veneno. Neste trabalho, os autores estudaram a relação entre *T. mairii* e *R. marina*. A resistência da serpente ao veneno do sapo poderia ter sido adquirida a partir de uma rápida seleção (ocorrida nos últimos 80 anos) via ingestão do sapo. Alternativamente, essa resistência poderia ser explicada em função da origem asiática dessa serpente, cujos ancestrais já haviam convivido com bufonídeos. Um outro aspecto que poderia favorecer a convivência seria a preferência da serpente por ingestão de rãs. Essa preferência seria inata ou adquirida por aprendizado? Os pesquisadores compararam populações de *T. mairii* que já convivem com *R. marina* desde a sua introdução, com populações que entraram em contato recente (cerca de 3 anos) com o anuro. O resultado foi que essas duas populações de serpentes apresentam o mesmo grau de sensibilidade ao veneno do sapo. As duas populações também mostraram preferência à ingestão de rãs ao invés de sapos. Estudos com *T. mairii* recém-nascidas demonstraram que o aprendizado desempenha pouco ou nenhum papel nessa preferência. Assim, a tolerância fisiológica ao veneno de *R. marina,* bem como a preferência por rãs são características inatas de *T. mairii* e não representam adaptações à introdução desse bufonídeo na Austrália. Tais características, portanto, devem ter sido herdadas dos seus ancestrais asiáticos, que, provavelmente, eram adaptados à convivência com bufonídeos. Os autores concluem que a história biogeográfica é importante no estudo do impacto de espécies invasoras sobre táxons nativos.

Thomé, M. T. C., K. R. Zamudio, C. F. B. Haddad e J. Alexandrino. 2012. Delimiting genetic units in Neotropical toads under incomplete lineage sorting and hybridization. *BMC Evolutionary Biology* 2012, 12: 242. Handle: http://www.biomedcentral.com/1471-2148/12/242

A delimitação de unidades genéticas é muitas vezes o primeiro passo que possibilita entender os mecanismos evolutivos da diversificação biológica. Thomé e colaboradores têm estudado a diversificação evolutiva dentro do grupo de sapos de *Rhinella crucifer,* testando a hipótese de se as seis espécies descritas dentro do grupo, com base em caracteres morfológicos, apresentam uma correspondência com unidades evolutivas independentes. Partindo de resultados publicados em 2010, que sugeriram uma correspondência limitada entre as espécies reconhecidas e as linhagens mitocondriais, os autores empreenderam uma ampla amostragem das espécies em toda a sua área de distribuição, e sequenciaram fragmentos do DNA mitocondrial e nuclear para delimitar as unidades genéticas dentro do grupo, através de métodos de reconstrução filogenética e de métodos de agrupamento de indivíduos baseados em frequências alélicas. Os resultados foram congruentes entre

os dois tipos de métodos usados, dando suporte à delimitação de cinco unidades genéticas, estando três localizadas na área principal de distribuição geográfica do grupo de *R. crucifer,* na Mata Atlântica, e outras duas ocorrendo em áreas isoladas no interior da Bahia e no Ceará. De forma geral, essas unidades genéticas não corresponderam às espécies atualmente descritas dentro do grupo, existindo ainda dois casos de possível hibridização entre unidades genéticas. Os indivíduos pertencentes à quinta unidade genética inferida (Ceará) não foram ainda examinados pelos autores, mas poderão vir a ser descritos como uma nova espécie. Os resultados sugerem que é necessária uma reavaliação taxonômica do grupo de *R. crucifer* para que cada espécie corresponda a uma entidade evolutiva independente. Essa correspondência verifica-se apenas para as espécies *Rhinella henseli* e *R. inopina*. O reconhecimento de outras espécies dependerá de reavaliar a distribuição geográfica de *R. crucifer,* de confirmar se os espécimes da localidade tipo de *R. ornata* são híbridos e de verificar se *R. abei* é realmente uma unidade genética independente. Os autores propõem que *R. pombali* não seja mais considerada uma espécie válida, pois a sua descrição foi baseada em indivíduos híbridos de *R. crucifer* e *R. ornata,* e que deveria tornar-se um sinômimo destes dois últimos nomes.

Murphy R.W., A. J. Crawford, A. M. Bauer, J. Che, S. C. Donnellan, U. Fritz, C. F. B. Haddad, Z. T. Nagy, N. A. Poyarkov, M. Vences, W. Wang, Y. Zhang. 2013. Cold Code: the global initiative to DNA barcode amphibians and nonavian reptiles. Molecular Ecology Resources. 13:161–167. DOI: 10.1111/1755-0998.12050

O método de *DNA barcoding* utiliza sequências de nucleotídeos, geralmente do genoma mitocondrial, para facilitar a identificação de espécies e a estimativa da biodiversidade. A maioria dos estudos utiliza o gene que codifica a subunidade I da molécula de citocromo-oxidase (COI; Entrez COX1). Existem iniciativas de *DNA barcoding* para vários grupos taxonômicos, como peixes, aves, mamíferos e fungos. Outros projetos são focados em regiões, como o Ártico, ou temas, como a saúde. Existem iniciativas de *DNA barcoding* para todos os grupos de vertebrados menos anfíbios e répteis (excluindo Aves). Neste artigo os autores anunciam a formação de Cold Code (= código frio), uma iniciativa internacional para gerar códigos de barras de DNA para todas as espécies desses vertebrados de "sangue frio". O projeto tem um Comitê Gestor, Coordenadores, e uma home page. Para facilitar Cold Code, o Instituto de Zoologia Kunming da Academia Chinesa de Ciências genererá sequências de COI para os primeiros 10 exemplares de uma espécie sem nenhum custo para os donos dos tecidos. Os autores esclarecem que a obtenção e envio legal dos tecidos é obrigatório, e enfatizam que isso é um problema importante para espécies controlados pela Convenção de Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas (CITES). Entretanto, uma opção seria realizer a amplificação no pais de origem e apenas enviar o produto de PCR, uma vez que isso é isento às restrições da CITES por ser um produto sintético.

Grant, R., T. Halliday e E. Chadwick. 2013. Amphibians' response to the lunar synodic cycle: a review of current knowledge, recommendations, and implications for conservation. Behavioral Ecology 24(1): 53-62. DOI: 10.1093/beheco/ars135

As respostas dos anfíbios aos ciclos lunares ainda são muito pouco exploradas na literatura. Nesta revisão sobre o assunto, os autores encontraram 79 exemplos nos quais foram estudados os efeitos do ciclo lunar em relação ao comportamento de anfíbios, envolvendo várias linhagens. Na maioria dos casos, houve alguma resposta por parte dos anfíbios e os autores não encontraram diferença significativa entre o número de casos em que houve declínio de atividade ou aumento da mesma durante períodos de lua cheia. Os autores afirmam que as respostas ao ciclo lunar não podem ser generalizadas entre as diversas linhagens de anfíbios. Ao contrário, elas são altamente espécie-específicas e relacionadas diretamente à ecologia de cada espécie. As principais razões para as mudanças de comportamento em resposta ao ciclo lunar parecem ser a sincronização da reprodução e a evitação de predadores. Os autores mostram que as respostas relacionadas à disponibilidade de presas, à facilitação de sinais visuais e ao uso da lua para orientação são menos frequentes, mas sugerem atenção às mesmas em futuros estudos. Ao final do trabalho, os autores fornecem recomendações relativas à obtenção e análise de dados relacionados às fases lunares, de forma a permitir comparações entre os futuros estudos.

Meiri, S., Bauer, A. M., Chirio, L., Colli, G. R., Das, I., Doan, T. M., Feldman, A., Herrera, F.-C., Novosolov, M., Pafilis, P., Pincheira-Donoso, D., Powney, G., Torres-Carvajal, O., Uetz, P. and Van Damme, R. No prelo. (disponível online), Are lizards feeling the heat? A tale of ecology and evolution under two temperatures. Global Ecology and Biogeography. DOI: 10.1111/geb.12053

Sabe-se que a temperatura influencia boa parte da ecologia das espécies. Mas qual tipo de temperatura? Os fisiologistas geralmente estudam a influência da temperatura corporal, ao passo que os biogeógrafos e macro-ecólogos tendem a se concentrar nas temperaturas ambientais. Nesse estudo, as relações entre essas duas medidas são exploradas de forma a determinar os fatores que afetam a temperatura corporal de lagartos e testar o efeito de ambas medidas sobre a história de vida desses animais. Os autores usam uma base de dados global (861 espécies) de temperaturas corporais de lagartos e as temperaturas anuais médias ao longo de suas distribuições, de forma a examinar as relações entre elas. Eles então examinam os fatores que influenciam a temperatura corporal e testam a influência de caracteres ecológicos e de história de vida, controlando os efeitos de filogenia. As temperaturas corporais a as temperaturas médias anuais não são correlacionadas. Entretanto, quando se leva em conta o horário de atividade (espécies noturnas possuem temperaturas corporais mais baixas), o uso do espaço (espécies

fossoriais e semi-aquáticas são "mais frias"), a insularidade (espécies continentais são "mais quentes") e a filogenia, as duas medidas de temperatura mostram-se positivamente correlacionadas. Altas temperaturas corporais estão associadas apenas a filhotes maiores e a maiores taxas de produção de biomassa. As temperaturas anuais são positivamente correlacionadas com a frequência de oviposição e com a longevidade anual e negativamente correlacionadas com o tamanho da ninhada, a idade na primeira reprodução e a longevidade. Os autores concluem que lagartos com temperaturas corporais mais baixas não parecem ter atributos ligados a histórias de vida "mais lentas" quando comparados a espécies com temperaturas corporais mais altas. As estações mais longas que predominam nas regiões mais quentes do planeta, bem como processos fisiológicos que operam quando os lagartos estão inativos, fazem com que as temperaturas ambientais sejam mais adequadas para a previsão das variações na história de vida dos lagartos do que as temperaturas corporais. Tal constatação indica que o aquecimento global pode ter uma influência importante na ecologia e na evolução dos lagartos.

McCormack J.E., S. M. Hird, A. J. Zellmer, B. C. Carstens, R. T. Brumfield. 2013. Applications of next-generation sequencing to phylogeography and phylogenetics. Molecular Phylogenetics and Evolution. 66:526–38. DOI: 10.1016/j.ympev.2011.12.007

A biologia molecular está sofrendo uma transição sem precedentes no sequenciamento de DNA com o advento do sequênciamento de próxima geração (*next-generation sequencing,* NGS). Estas tecnologias claramente oferecem a possibilidade da geração rápida e econômica de dados de sequências de múltiplos loci para estudos de filogeografia e filogenética. No entanto, o foco em organismos não-modelo e a incerteza quanto aos métodos de preparação de amostras e análises mais apropriadas para diferentes tipos de pesquisas e idades evolutivas, contribuíram para um atraso na aplicação do NGS a esses campos. Neste artigo os autores descrevem alguns dos principais obstáculos para a aplicação do NGS em estudos de filogeografia e filogenética, incluindo o foco em organismos não-modelo, a necessidade de obtenção de loci ortólogos de uma forma econômica e o uso predominante de árvores de genes nestes campos. Descrevem também os métodos que consideram mais promissores de preparação das amostras para responder a esses desafios. Métodos de redução do genoma por enzimas de restrição e seleção de tamanho manual são os mais adequados para estudos intra-específicos, enquanto os métodos que identificam certas regiões genômicas específicas (ou seja, *target enrichment* ou *sequence capture*) tem maior aplicabilidade para estudos entre populações até níveis filogenéticos mais profundos. Os autores apresentam uma visão geral de como analisar os dados NGS para chegar a conjuntos de dados que possam ser analisados pelo conjunto de ferramentas padrão para análise filogeografia e filogenética, incluindo o processamento dos dados iniciais até o alinhamento e a genotipagem (tanto SNPs como loci envolvendo muitos SNPs). Apesar de que é provável que o sequenciamento de genomas completos se torne acessível em breve, o fato da filogeografia e da filogenética dependerem da análise de centenas de indivíduos indica que os métodos de redução do genoma a um subconjunto de loci devem continuar sendo os mais custo-efetivos para estas disciplinas durante um bom tempo.



Oxyrhopus petolarius, Santa Teresa, ES (Foto: J. P. Pombal Jr.).

Diagnóstico do fungo Quitrídio: *Batrachochytrium dendrobatidis*

Carolina Lambertini[1,2], David Rodriguez[3], Fábio B. Brito[4], Domingos da Silva Leite[2], Luís Felipe Toledo[5]

[1] *Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil. E-mail: lambertini.carol@gmail.com*
[2] *Laboratório de Antígenos Bacterianos, Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Rua Monteiro Lobato, s/n, Cidade Universitária, 13083-862, Campinas, SP, Brasil.*
[3] *Department of Ecology and Evolutionary Biology, Cornell University, Ithaca, NY, 14853, USA.*
[4] *Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas. Rodovia Municipal Bom Jesus, Viana, km 01, Planalto Horizonte, 64900-000, Bom Jesus, PI, Brasil.*
[5] *Museu de Zoologia "Prof. Adão José Cardoso", Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Rua Albert Einstein, s/n, Cidade Universitária, 13083-863, Campinas, SP, Brasil. E-mail: toledolf2@yahoo.com*

Dado o impacto deletério que a quitridiomicose impõe sobre populações naturais de anfíbios ao redor do mundo, o estudo do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) está crescendo exponencialmente. Isto é observado não só nos países onde foram relatados declínios e extinções, mas também no Brasil, onde ainda poucos estudos foram concluídos. Portanto, consideramos importante que a comunidade científica brasileira tome conhecimento das diversas técnicas disponíveis para a diagnose do *Bd*. Dentre uma vasta gama de possibilidades, apresentamos neste artigo as principais técnicas atuais, tanto para animais vivos, como para animais fixados, incluindo aqueles depositados em coleções científicas.

Técnicas para animais recém-capturados

1. Identificação visual

A análise visual para detectar a presença de zoosporângios no tecido do aparato bucal de girinos é realizada de acordo com o protocolo de Vieira e Toledo (2012). Observar o aparato bucal dos girinos em lupa estereoscópica, identificando aparato bucal sem perda de queratina (Figura 1A) ou se há despigmentação nos dentículos e bico córneo (Figura 1B). É importante ressaltar que o diagnóstico preciso de infecção por *Bd* não deve ser completamente associado à despigmentação do aparato bucal dos girinos, já que tal despigmentação pode ser decorrente da exposição a contaminantes químicos (Boyle *et al.* 2004), baixas temperaturas, ou mesmo devido à metamorfose (Rachowicz e Vredenburg, 2004). Na maioria (mais de 90%) dos casos a despigmentação está associada à infecção (Knapp e Morgan, 2006). Por outro lado, também observamos casos onde não há deformação do aparato bucal, mas através da visualização microscópica foi confirmada a presença de zoosporângios (menos de 10% dos casos).

2. Análise direta em microscópio

A identificação do *Bd* é realizada através da visualização de cortes de tecido do aparato bucal de girinos, e representa a primeira fase do isolamento (ver Vieira e Toledo, 2012), na qual se busca a visualização de zoosporângios presentes nos tecidos. Deve-se então matar o girino por decapitação, realizar o corte do aparato bucal do girino, alocá-lo em uma lâmina com uma gota de água destilada (pode ser substituída por água comum, caso não seja de interesse realizar o isolamento *a posteriori*), cortar o tecido com bisturi em pedaços pequenos, cobrir com lamínula e observar ao microscópio óptico em aumento de 400X. A identificação se dá pela visualização de zoosporângios no tecido examinado (Figura 1C).

3. Extração de DNA e PCR convencional

3.1. Coleta de material para análise molecular

Primeiramente deve-se coletar o material micótico dos espécimes de anfíbios. Para tanto, o método mais usual é o *swabbing*, no qual *swabs* (= hastes flexíveis com algodão em uma das pontas; zaragatoas) estéreis, com haste plástica, são passados 5 vezes na região inguinal direita, 5 vezes na região inguinal esquerda, 5 vezes nas membranas (ou região) interdigitais dos membros inferiores direito e esquerdo e 5 vezes nas membranas (ou região) interdigitais dos membros superiores direito e esquerdo de cada indivíduo (Hyatt *et al.* 2007) (Figura 1D). O número e os locais para passagem do *swab* podem ser adequados ao estudo e animal em questão, mas existe uma tendência para esta padronização metodológica. Para evitar contaminação cruzada, cada animal deve ser manipulado com um par de luvas diferente, e os *swabs* devem ser acondicionados em criotubos (tubos criogênicos) de 1,5 mL (secos; mas é possível também armazená-los embebidos em álcool PA) e estocados em Ultrafreezer à -80°C (ou freezer convencional à -20°C) até o momento do uso.

3.2. Extração

Após a coleta do material, a extração de DNA deve ser realizada de acordo com Boyle *et al.* (2004) com algumas modificações descritas a seguir. Adicionar 50 µL do reagente PrepMan ULTRA® (Applied Biosystems) a cada criotubo contendo o *swab*. Agitar os tubos em vortex por 45 segundos, centrifugar por 30 segundos a 12.000 RPM, agitar em vortex novamente por 45

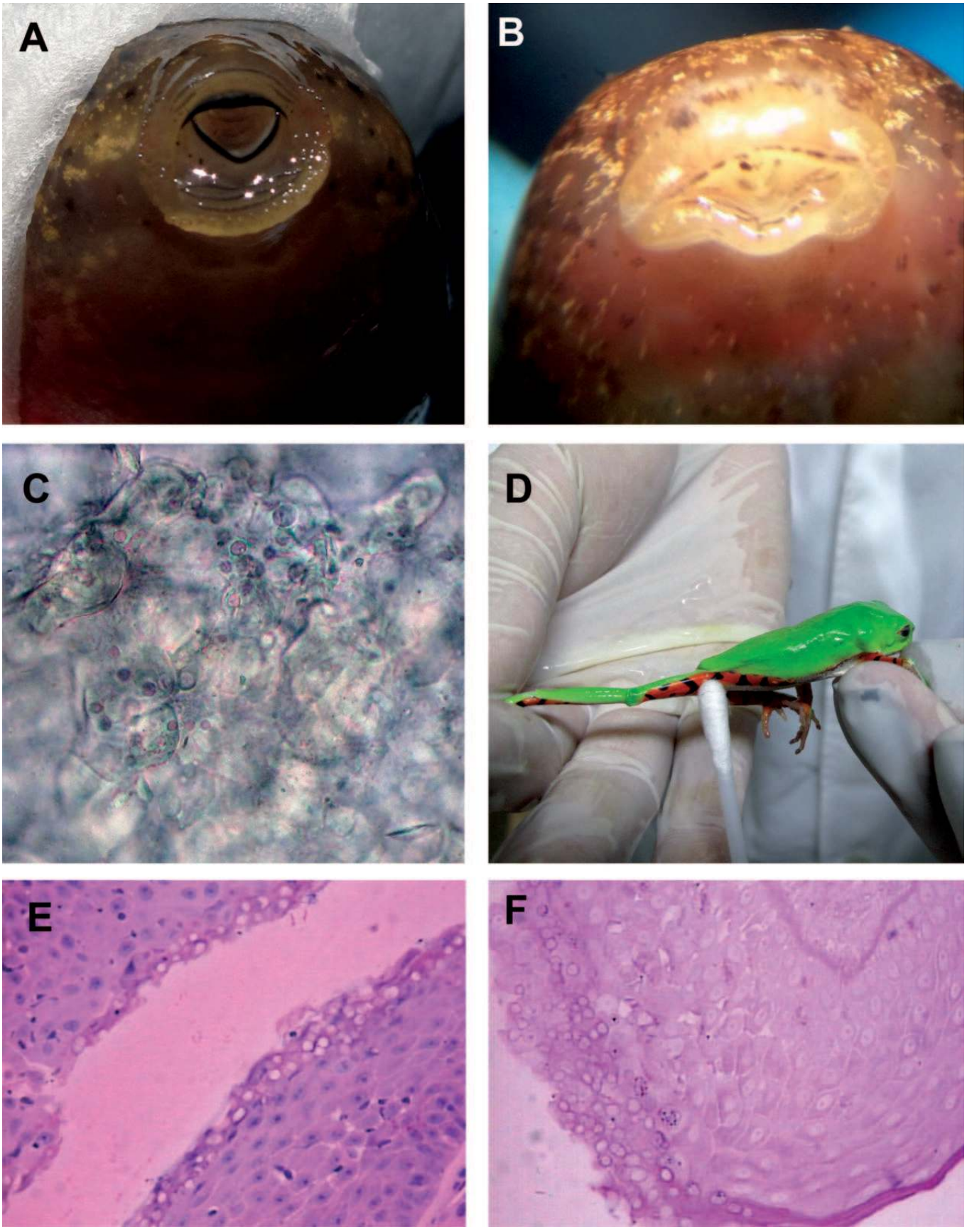


Figura 1: Aparato bucal de girino (*Lithobates catesbeianus*) não infectado (A) e aparato bucal de girino (*Hylodes* sp.) infectado (B); Tecido contaminado com quitrídio, em aumento de 400X, sem corantes (C); *swabbing* na região inguinal de adulto de *Phyllomedusa* sp. (D); tecido corado com H.E. evidenciando a presença de zoosporângios (E); tecido corado por PAS evidenciando a presença de zoosporângios (F).

segundos, centrifugar por 30 segundos a 12.000 RPM, aquecer em banho com água fervente por 10 minutos, resfriar em temperatura ambiente por 2 minutos, centrifugar por 1 minuto a 12.000 RPM, inverter o *swab* dentro do criotubo, utilizando pinças flambadas a cada inversão, centrifugar por 5 minutos a 12.000 RPM, descartar os *swabs,* centrifugar rapidamente (por alguns segundos), transferir 45 µL da solução para novos tubos. Centrifugar por 10 minutos a 12.000 RPM e preparar uma diluição 1:10 do material genético para estocar (também poderá ser utilizada nas reações de qPCR). Um método alternativo foi descrito por Goka *et al.* (2009).

3.3. Amplificação

A amplificação do DNA é realizada através da técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction), de acordo com o protocolo de Annis *et al.* (2004), utilizando os iniciadores (*primers*) específicos do *Bd:* Bd1a (5'-CAGTGTGCCATATGTCACG-3'), e Bd2a (5'-CATGGTTCATATCTGTCCAG-3'), Para uma reação com volume final de 25 µL, preparar um mix contendo 1 µM de cada primer, $MgCl_2$ (0.9 mM), 1XTaq Buffer, 0.2 mM de cada dNTP e 0.8 U de TaqPolymerase. Um controle negativo de água destilada deve ser adicionado à reação, As condições de amplificação devem ser: denaturação inicial a 93°C por 10 minutos, seguida de 30 ciclos de 45 segundos a 93°C, 45 segundos a 60°C, 1 minuto a 72°C, e extensão final a 72°C por 10 minutos. Após a reação de PCR, aproximadamente 10 µL de cada amplificado deve ser analisado em gel de agarose 0,7%, juntamente com um DNA *ladder* como um padrão de tamanho de DNA. O gel deve ser corado com brometo de etídio e visualizado em transluminador de luz ultravioleta. O resultado é considerado positivo para presença de *Bd* quando forem visualizadas bandas de amplificação de aproximadamente 300 pb.

4. Análise molecular por PCR quantitativo em tempo real (qPCR)

Para realizar a reação de qPCR, é necessário preparar inicialmente os padrões que serão utilizados como parâmetros no processo de quantificação.

4.1. Suspensão da cultura de *Bd*

Preparar inóculos do *Bd* em placas de ágar Triptona 1% (Longcore *et al.* 1999; Vieira e Toledo, 2012). As culturas devem ser mantidas em estufa à 21°C por aproximadamente 7 dias. Uma vez observada atividade dos zoósporos, adicionar 10 mL de água MilliQ em cada placa e aguardar 30 minutos para que os zoósporos fiquem nadando livres na solução. Após esse procedimento, raspar as placas com alça plástica estéril, e transferir todo o conteúdo para tubos tipo Falcon de 50 mL. Agitar os tubos em vortex por 25 segundos, coletar a suspensão com uma seringa de 20 mL com bico LuerLok® (BD), filtrar a suspensão utilizando filtros de membrana com poros de 10 µm de diâmetro e adicionar o filtrado em outro tubo tipo Falcon de 50 mL.

4.2. Contagem de zoósporos

Este procedimento é realizado para determinar a concentração da suspensão de zoósporos utilizada no preparo dos padrões que serão utilizados na reação. É necessário preparar uma solução v/v com volume final de 100 µL, contendo a suspensão de zoósporos e iodo a 2%. Aguardar 10 minutos para a morte e coloração dos zoósporos. Preencher ambos os lados de um hemocitômetro (câmara de Neubauer) com aproximadamente 10 µL da suspensão e realizar a contagem, na qual deverão ser contados zoósporos presentes em 10 quadrados do quadrante central de cada lado da câmera. Obter a média dos 10 quadrados e cada lado e multiplicar por 25. Multiplicar esse resultado por 10 e multiplicar por 2 devido a diluição com iodo, obtendo assim a média de zoósporos presentes em 1 µL. A concentração pode variar, mas o número de zoósporos da suspensão deve ser 2×10^6 para iniciar a diluição seriada, e a contagem deve ser repetida no mínimo 10 vezes, ou seja em 5 câmaras. Outras metodologias de contagem podem ser conduzidas conforme sua preferência.

4.3. Extração de DNA para os padrões

Após a contagem de zoósporos a suspensão contendo 2×10^6 zoósporos deve ser centrifugada a 12.000 RPM por 10 minutos. Remover o sobrenadante, ressuspender o *pellet* em 100 µL de PrepMan Ultra® (Applied Biosystems), agitar em vortex por 45 segundos, centrifugar rapidamente (alguns segundos), ferver a suspensão durante 10 minutos, resfriar por 2 minutos, agitar em vortex rápido e centrifugar novamente a 12.000 RPM por 5 minutos. Após o procedimento de extração, a suspensão está concentrada a 2×10^4 equivalentes genômicos (abreviado como g.e.; dado que não são mais os zoósporos na sua suspensão e sim o material genético extraído equivalente) em 1 µL ou g.e. μL^{-1}, e será este o *padrão de estoque.*

4.4. Diluição do padrão de estoque

Sabe-se a concentração da suspensão em g.e., agora deve ser realizada a diluição seriada dos padrões para construção da curva padrão. A partir do *padrão de estoque,* com concentração de 2×10^4 g.e. μL^{-1}, deve-se preparar os *padrões de trabalho,* que são diluições seriadas 1:10, iniciando-se com a concentração de 200 g.e. $\mu L^{-1} \times 5$ µL (volume da reação) = 1000 g.e. total na reação (padrão de trabalho 10^3). Deste padrão, as diluições seriadas devem chegar até a concentração de 0,02 g.e. μL^{-1} (padrão de trabalho 10^{-1}). Assim, teremos os padrões de trabalho nas seguintes concentrações: 10^3, 10^2, 10, 1 e 10^{-1} g.e. Após a diluição, deve-se se montar a placa de reação com a primeira fileira contendo 5 µL por poço de cada padrão diluído. O primeiro poço deve conter uma solução padrão 10^3 g.e., seguido dos padrões 10^2, 10, 1 e 10^{-1} g.e. As últimas duas concentrações (1 e 10^{-1}) devem ser adicionadas em duplicata. O último poço deve conter 5 µL de água livre de nucleases como controle negativo.

4.5. Extração de DNA a partir de *swabs*

A extração de DNA segue o mesmo procedimento descrito no item 1.2.

4.6. Reação de qPCR

Para uma placa de 96 poços, deve ser preparado um *"reaction master mix"* contendo: 1250 µL de Taqman Master Mix (Applied Biosystems®), 125 µL do *primer* (Boyle *et al.* 2004) ITS1-3 Chytr (5'-CCTTGATATAATACAGTGTGCCATATGTC-3') concentrado à 18 µM, 125 µL do *primer* 5.8S Chytr (5'-AGCCAAGAGATCCGTTGTCAAA-3') concentrado à 18 µM, 125 µL da sonda ChytrMGB2 (5'-6FAM CGAGTCGAACAAAAT MGBNFQ-3') concentrada à 5 µM, 275 µL de água destilada, e 100 µL de BSA (*Bovine Albumin Serum* / Soro Albumina Bovina). Adicionar 20 µL do mix em cada poço da placa, e adicionar 5 µL do DNA extraído e diluído 1:10 a partir da segunda coluna da placa. Preparar também o controle negativo sem DNA no último poço da primeira coluna da placa, e adicionar os padrões nas diluições 10^3, 10^2, 10, 1 e 10^{-1} g.e. (sendo os dois últimos em duplicata) para a construção da curva padrão nos 7 poços da primeira coluna da placa. A cepa de *Bd* utilizada para a curva padrão deve ser identificada nos estudos, visto que a carga de infecção estimada pela reação de qPCR varia com a cepa (ver Longo *et al.* 2013).

Técnicas para animais preservados

5. Preparação Histológica

Larvas e anfíbios pós-metamórficos podem ser utilizados para investigação da presença do fungo por histologia. Não há informações que relatem a presença dos fungos em desovas. Animais coletados vivos devem ser fixados da maneira tradicional (*i.e.,* fixados em formalina 10% ou paraformaldeído 4%, e conservados em álcool 70%) (Berger *et al.* 2000).

O quitrídio tem afinidade por regiões queratinizadas da pele, assim, no caso de larvas e girinos, a análise deve ser realizada por meio de secções da região oral, onde existe grande concentração de queratina. Já para os espécimes pós-metamórficos, as secções devem ser realizadas nas regiões interdigitais (para anuros e salamandras). Para o preparo das amostras frescas, uma pequena porção do tecido deverá ser transferida para uma solução de formol 10% ou paraformaldeído 4% (preferencialmente tamponados em fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,4), por 24 horas (caso o material já esteja fixado, o procedimento poderá ser iniciado no próximo passo). Em seguida, o material deverá ser transferido para uma solução tampão (fosfato de sódio 0,1 M; pH 7,4), onde permanecerá por mais 24 horas (Toledo *et al.* 2006).

O processo de inclusão do tecido poderá ser realizado utilizando-se parafina ou resinas plásticas (historesinas). Para a detecção dos fungos por análise morfológica, recomenda-se o uso de resina, que apresenta maior resolução nas imagens, porém, resultados satisfatórios também são obtidos com o uso de parafina. Assim, após a fixação e banho em tampão, os tecidos deverão ser desidratados, uma vez que a água presente nos mesmos é imiscível a substâncias apolares como parafina e resinas de inclusão. A desidratação deverá ser realizada por meio de imersão numa bateria de soluções alcoólicas em concentrações graduais e crescentes. A graduação pode ser iniciada a partir de 50% e terminar em álcool absoluto (no caso da parafina) ou álcool 95% (no caso da resina plástica). Recomenda-se que seja utilizada uma bateria de álcoois 50, 70, 80, 90 e 100% (ou 95% para resina), com duração de 30 minutos à 1 hora em cada banho (Toledo *et al.* 2006).

5.1. Inclusão em resina (protocolo descrito para resina Leica®)

Após a desidratação, o tecido deverá ser embebido numa solução de resina com etanol 95% (1:1) durante 4 horas, à temperatura ambiente. Decorrido este tempo, o material deverá ser embebido em resina pura, por 24 horas, para a perfeita infiltração, sendo mantido resfriado a aproximadamente 4°C. As amostras deverão então ser transferidas para moldes contendo resina com polimerizador (15:1) e mantidas em estufa, a 37°C até a completa polimerização da resina (neste passo, a posição do material deverá ser ajustada para que os cortes sejam realizados na posição desejada). O material deverá, assim, ser seccionado em micrótomo com cerca de 5 µm de espessura e colocado sobre lâmina histológica para a coloração e posterior análise (Berger *et al.* 2000; Toledo *et al.* 2006).

No caso da utilização de outras resinas, o procedimento deverá ser realizado conforme especificações do fabricante.

5.2. Inclusão em parafina

O tecido deverá ser tratado com uma substância de transição. A inclusão em parafina é precedida pelo uso de substâncias químicas como o xilol, que são miscíveis tanto em álcool quanto em parafina. Neste caso, separe 3 banhos de xilol e deixe o material por 40 minutos em cada um. Após a remoção do álcool, o tecido deverá passar por uma infiltração em parafina líquida (ponto de fusão a 56°C), sendo mantido por 4 horas neste meio. O tecido deverá, então, ser transferido para um molde contendo parafina líquida, na posição que será seccionado. Em poucos minutos a parafina endurecerá e obter-se-á, portanto, o "bloco" contendo o fragmento do tecido em seu interior. O material deverá, assim, ser seccionado em micrótomo, com cerca de 5 a 7 µm de espessura, e colocado sobre lâminas histológicas para a coloração e posterior análise. Após a microtomia, o tecido deverá ser tratado novamente com xilol para remoção da parafina e posterior reidratação com o auxílio da bateria de álcoois (agora em concentração decrescente e por cerca de 5 minutos em cada banho), finalizando-se o procedimento com um banho de água.

5.3. Técnica de coloração com Hematoxilina e Eosina (H.E.)

Esta técnica é utilizada para a observação das características morfológicas gerais dos fungos (Figura 1E). Para isso, as

Tabela 1: Comparação das técnicas utilizadas para identificação do *Bd,* incluindo a sensibilidade do método e o custo comparativo (de + a ++++, sendo que "—" indica ausência de custo), informação se envolve ou não a morte e destruição do material (S = sim, N = não), se permite a confirmação da presença/ausência da infecção (S) ou apenas a sua possibilidade (P), e se é um método que permite quantificar a carga de infecção (S = sim, N = não).

Técnica	Sensibilidade	Custo	Morte do animal	Destruição do material	Presença ou ausência	Quantificação
Exame mesoscópico						
Visual	+	—	N	N	P	N
Exames microscópicos						
A fresco	++	+	S	S	S	N
H.E.	++	+	S	S	S	N
PAS	++	+	S	S	S	N
Grocott	++	++	S	S	S	N
Imunoperoxidase	++	++	S	S	S	N
Técnicas moleculares						
PCR animal vivo	+++	+++	N	N	S	N
qPCR animal vivo	++++	++++	N	N	S	S
qPCR animal morto	++	++++	S	N	S	N

lâminas deverão ser hidratadas em água destilada por 1 minuto e mergulhadas em solução de hematoxilina, por 20 minutos. Em seguida, as mesmas deverão ser transferidas para outro banho em água destilada, onde permanecerão por 5 minutos. Após este procedimento, o material deverá ser lavado e mergulhado em solução de eosina por 5 minutos, e, novamente, lavado em água corrente para a retirada do excesso de corante. As lâminas deverão secar em estufa, a 37°C e, em seguida, ser montadas com lamínulas. Neste procedimento, os fragmentos serão protegidos pela cobertura com lamínulas de vidro, sendo esta colada na lâmina através de substâncias selantes como, por exemplo, o Entellan ou Bálsamo do Canadá. Após a secagem (em estufa a 37°C), as lâminas poderão ser observadas ao microscópio de luz.

5.4. Técnica de coloração de PAS (Ácido Periódico de Schiff)

Está técnica é muito utilizada por evidenciar os carboidratos presentes no interior dos fungos, facilitando sua identificação (Figura 1F). Para sua realização as lâminas deverão ser lavadas em água destilada e, posteriormente, coradas em ácido periódico 1%, por 5 minutos. Após nova lavagem em água destilada, as lâminas deverão ser colocadas no reagente de Schiff, à temperatura ambiente, por 15 minutos, protegidas da luz. Em seguida, as lâminas deverão ser lavadas em água corrente, por 10 a 15 minutos (ou até que a coloração fique evidente). Esta lavagem é um passo importante, pois será na reação com água que os corantes evidenciarão sua cor. As lâminas deverão ser secas em estufa e montadas de acordo com a técnica anterior.

5.5. Outros corantes

Além de HE e PAS, também existem outras metodologias de coloração que podem ser empregadas, como por exemplo, a Metenamina de Prata de Grocott para fungos (Nassar *et al.* 2006), onde também é destacada a presença de carboidratos, ou a coloração de imunoperoxidase (Berger *et al.* 2002). Esta última se destaca por ser específica para quitrídios, evidenciando claramente as infecções. Todavia, o uso de anticorpos policlonais faz com que o custo fique elevado. Além disto, ambas são técnicas menos habituais nos laboratórios de histologia. Também é possível combinar diferentes técnicas histológicas, corando diferentes componentes teciduais (ver Olsen *et al.* 2004).

6. Análise molecular

A identificação do *Bd* em animais fixados, depositados em coleções científicas, é realizada através da técnica de qPCR, executada exatamente da mesma forma que a análise em animais vivos.

6.1. Extração de DNA e reação de qPCR

De acordo com a metodologia descrita acima (1.2 e 1.3). Entretanto, o resultado não pode ser utilizado como dado quantitativo, somente como presença e ausência, dado que o método perde sensibilidade e existe possibilidade de contaminação cruzada dos animais em vidros de museu (Soto-Azat *et al.* 2009). Para reduzir a contaminação cruzada, lavar os indivíduos com bastante álcool 70% (utilize uma piceta) e esperar eles secarem, antes do *swab*. Utilize luvas diferentes entre os indivíduos também.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diversos fatores devem ser levados em consideração quanto à escolha da técnica adequada para detecção do *Bd* (Tabela 1). Segundo Pessier e Mendelson III (1999) as técnicas histológicas e identificação visual podem gerar muitos falsos negativos, especialmente quando a carga de infecção é baixa. Além disso, as técnicas histológicas demandam maior tempo de preparação do que as moleculares. Neste caso, recomenda-se utilizar técnicas moleculares (Kriger *et al.* 2006a, b; Hyatt *et al.* 2007), como PCR convencional e qPCR, as quais são muito sensíveis, capazes de detectar pequenas cargas de infecção cutânea, mesmo em animais assintomáticos (Pessier e Mendelson III, 2009).

Outro fator a ser levado em consideração é a necessidade de morte dos animais, especialmente quando espécies ameaçadas,

em declínio, ou raras são analisadas. Diante disso, técnicas não invasivas devem ser escolhidas ao invés das técnicas letais. Mesmo assim, algumas técnicas que indicamos a necessidade de morte dos animais (Tabela 1) podem ser adaptadas. Por exemplo, é possível realizar histologia de dedos amputados de animais vivos (*e.g.,* Penner *et al.* 2013). Porém a chance de detecção destes pedaços de pele é muito reduzida.

Finalmente, esperamos que os protocolos aqui apresentados estimulem e impulsionem estudos de conservação dos anuros Brasileiros.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos Amanda Keller Siqueira e Timoty Y. James por comentários em versões prévias do manuscrito, FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo), NSF (National Science Foundation), e USFWS (U.S. Fish and Wildlife Service) por fornecer financiamento e bolsas de estudos (Processos 2008/50325-5 e 2011/51694-7).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Annis, S.L., F.P. Dastoor, H. Ziel, P. Daszak e J.E. Longcore. 2004. A DNA-based assay identifies *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians. *Journal of Wildlife Diseases,* 40:420-428.

Berger, L., R. Speare e A. Kent. 2000. Diagnosis of chytridiomycosis in amphibians by histologic examination. Zoo's *Print Journal,* 15:184-190.

Berger, L., A.D. Hyatt, V. Olsen, S.G. Hengstberger, D. Boyle, G. Marantelli, K. Humphreys e J.E. Longcore. 2002. Production of polyclonal antibodies to *Batrachochytrium dendrobatidis* and their use in immunoperoxidase test for chytridiomycosis in amphibians. *Diseases of Aquatic Organisms,* 48:213-220.

Boyle, D.G., D.B. Boyle, V. Olsen, J.A. Mongan e A.D. Hyatt. 2004. Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms,* 60:141-148.

Goka, K., J. Yokoyama, Y. Une, T. Kuroki, K. Suzuki, M. Nakahara, A. Kobayashi, S. In Aba, T. Mizutani e A.D. Hyatt. 2009. Amphibian chytridiomycosis in Japan: distribution, haplotypes and possible route of entry into Japan. *Molecular Biology,* 18:4757-4774.

Knapp, R.A. e J.A.T. Morgan. 2006. Tadpole mouthpart depigmentation as an accurate indicator of chytridiomycosis, an emerging disease of amphibians. *Copeia,* 2:188-197.

Kriger, K.M., J.M. Hero e K.J. Ashton. 2006a. Cost efficiency in the detection of chytridiomycosis using PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms,* 71:149-154.

Kriger, K.M., H.B. Hines, A.D. Hyatt, D.G. Boyle e J.M. Hero. 2006b. Techniques for detecting chytridiomycosis in wild frogs: comparing histology with real-time Taqman PCR. *Diseases of Aquatic Organisms,* 71:141-148.

Hyatt, A.D., D.G. Boyle, V. Olsen, L. Berger, D. Obendorf, A. Dalton, K. Kriger, A. Hero, H. Hines, R. Phillot, R. Campbell, G. Marantelli, F. Gleason e A. Colling. 2007. Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis. Diseases of Aquatic Organisms,* 73:175-192.

Longcore, J.E., A.P. Pessier e D.K. Nichols. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia,* 91:219-227.

Longo, A.V., D. Rodriguez, D.S. Leite, L.F. Toledo, C. Mendoza-Almeralla, P.A. Burrowes e K.R. Zamudio. 2013. ITS1 copy number varies among *Batrachochytrium dendrobatidis* strains: implications for qPCR zoospore estimation of field-collected amphibian skin swabs. *Plos One,* 8(3):e59499.

Nassar, A., M. Zapata, J.V. Little e M.T. Siddiqui. 2006. Utility of reflex gomori methenamine silver staining for *Pneumocystis jirovecii* on bronchoalveolar lavage cytologic specimens: A review. *Diagnostic Cytopathology,* 34:719-23.

Olsen, V., A.D. Hyatt, D.G. Boyle e D. Mendez. 2004. Co-localization of *Batrachochytrium dendrobatidis* and keratin for enhanced diagnosis of chytridiomycosis in frogs. *Diseases of Aquatic Organisms,* 61:85-88.

Penner, J., G.B. Adum, M.T. McElroy, T. Doherty-Bone, M. Hirschfeld, L. Sandberger, C. Weldon, A.A. Cunningham, T. Ohst, E. Wombwell, D.M. Portik, D. Reid, A. Hillers, C. Ofori-Boateng, W. Oduro, J. Plötner, A. Ohler, A.D. Leache e M.O. Rödel. 2013. West Africa – A safe haven for frogs? A sub-continental assessment of the chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*). *Plos One,* 8(2):e56236.

Pessier, A.P. e J.R. Mendelson. 2009. A Manual for Control of Infectious Dideases in Amphibian Survival Assurance Colonies and Reintroduction Programs. *Conservation Breeding Specialist Group,* 1-229.

Rachowicz, L.J. e V.T. Vredenburg. 2004. Transmission of *Batrachochytrium dendrobatidis* within and between amphibian life stages. *Diseases of Aquatic Organisms,* 61:141-148.

Soto-Azat, C., B.T. Clarke, M.C. Fisher, S.F. Walker e A.A. Cunningham. 2009. Non-invasive sampling methods for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* in archived amphibians. *Diseases of Aquatic Organisms,* 84:163-166.

Toledo, L.F., C.F.B. Haddad. A.C.O.Q. Carnaval e F.B. Britto. 2006. A Brazilian anuran (*Hylodes magalhaesi:* Leptodactylidae) infected by *Batrachochytrium dendrobatidis:* a conservation concern. *Amphibian and Reptile Conservation,* 4:17-21.

Vieira, C.A. e L.F. Toledo. 2012. Isolamento, cultivo e armazenamento do fungo quitrídio: *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Herpetologia Brasileira,* 1:18-19.



Phyllomedusa burmeisteri, Caraça, MG (Foto: J. P. Pombal Jr.).

Philodryas patagoniensis: (Reptilia, Serpentes, Colubridae): inquilinismo de incubação em olheiro de *Acromyrmex* sp

Marcovan Porto[1], Marcus Vieira de Souza[2]

[1] *Laboratório de Farmacologia, Departamento de Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual de Campinas. CEP 13083-887, Campinas, SP, Brasil. E-mail: marcovanporto@hotmail.com*
[2] *Faculdade de Medicina Veterinária, Centro Universitário Serra dos Órgãos, RJ, Brasil*

As serpentes neotropicais depositam seus ovos em locais onde raramente são encontrados pelos pesquisadores (Braz, 1988). Os ovos podem ser estar sob a proteção de pedregulhos, troncos ou qualquer outra superfície coberta, além de câmaras subterrâneas pré-formadas e dentro de ninhos de jacarés, formigueiros e cupinzeiros (Vaz-Ferreira *et al.,* 1970; Riley *et al.,* 1985; Hall e Meier, 1993).

Neste trabalho é apresentado o primeiro encontro no Brasil de postura de *Philodryas patagoniensis* em ninho de formiga cortadeira e o primeiro registro de postura de serpente no olheiro do formigueiro, uma área bem menos protegida que as câmaras de fungo.

Um exemplar de *Philodryas patagoniensis* encontrado morto no formigueiro está fixado em formalina a 10% e depositado como espécime testemunho no Laboratório de Anatomia do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO). As castas de formigas foram coletadas e fixadas em álcool a 70% e posteriormente identificadas até o nível genérico. As observações seguiram o método focal. Os quatro ovos íntegros encontrados no formigueiro foram transferidos para o olheiro de outro formigueiro, mas o seu desenvolvimento não foi acompanhado.

A Fazenda Paraíso (Teresópolis, RJ) está localizada a cerca de 800 m de altitude. Segundo a classificação climática de Köppen, o clima é do tipo Tropical de Altitude. As informações sobre a temperatura foram obtidas do Banco de Dados Metereológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP).

As observações ocorreram no dia 16 de março de 2006, por volta das 14 horas. O ninho encontrava-se em uma área de pasto, distante cerca de 150 m da borda de uma mata secundária de floresta atlântica. A abertura externa do ninho de *Acromyrmex* sp., o olheiro do formigueiro, era formado de terra e folhas. No interior do olheiro foram encontrados 23 ovos de serpentes, que estavam agrupados, indicando tratar-se de uma única postura. Do total de ovos, quatro estavam intactos, 18 estavam quebrados e vazios (Figura 1), e um apresentava o cadáver de um filhote natimorto preso a ele. Um filhote recém-nascido de *Philodryas patagoniensis* foi encontrado no olheiro. Ele se afastou do ninho rapidamente sem sofrer ataques das formigas, embora alguns soldados tenham subido no seu corpo. Não havia sinais da presença de outros recém-nascidos nas proximidades do formigueiro. As cascas coriáceas dos ovos não possuíam fungos aderidos a elas. Nenhum ovo foi encontrado no interior das câmaras de fungos.

Fêmeas de serpentes podem evitar a influência negativa de um clima desfavorável sobre o desenvolvimento dos seus ovos fazendo posturas em ninhos de formigas e térmitas (Vaz-Ferreira *et al.,* 1970; Vaz-Ferreira *et al.,* 1973; Brandão e Vanzolini 1985; Riley *et al.,* 1985; Brune *et al.,* 2012).

Os relatos de oviposição em formigueiros envolvem as câmaras de fungo de formigas dos gêneros *Acromyrmes, Atta* e *Apterostigma* (Vaz-Ferreira *et al.,* 1970; Vaz-Ferreira *et al.,* 1973; Emsley, M. 1977; Brandão e Vanzolini, 1985; Riley e Winch 1985a, b; Riley *et al.,* 1985; Oliveira e Della-Lucia, 1993; Velásquez-Múnera *et al.,* 2008; Baer *et al.,* 2009; Ghizoni-Jr. *et al.,* 2009; Bruner *et al.,* 2012), sendo as espécies do gênero *Acromyrmes* as mais utilizadas.

Na câmara de fungo as condições de umidade e temperatura são praticamente constantes e os filhotes recém eclodidos contam ainda com a proteção dos soldados do formigueiro contra eventuais predadores (Vaz-Ferreira *et al.,* 1970). Não há registro na literatura de comportamento agressivo das formigas em relação aos ovos (Vaz-Ferreira *et al.,* 1970; Vaz-Ferreira *et al.,* 1973; Emsley, 1977; Brandão e Vanzolini, 1985; Riley e Winch 1985a, b; Riley *et al.,* 1985; Oliveira e Della-Lucia, 1993; Velásquez-Múnera *et al.,* 2008; Baer *et al.,* 2009; Ghizoni-Jr. *et al.,* 2009; Bruner *et al.,* 2012), cujas cascas estão sempre úmidas (Brandão e Vanzolini, 1985). As formigas cuidam dos ovos



Figura 1: Olheiro parcialmente removido. Podem ser vistos os ovos de *Philodryas patagonienses*.

Tabela 1: Dados climatológicos do município de Teresópolis (RJ) entre dezembro de 2005 e 16 de março de 2006.

Ano	Máxima °C	Mínima °C
Dezembro 2005	30	10
Janeiro 2006	34,8	16,8
Fevereiro 2006	32,2	18
Março 2006	32,2	15,2

depositados pelas serpentes mantendo-os limpos e utilizam a casca dos ovos como substrato para cultivo de fungos (Bruner *et al.,* 2012).

Na região de Teresópolis a amplitude térmica diária pode ultrapassar 10°C (Fonte: BDMEP), e durante o período provável da incubação (dezembro de 2005 a março de 2006) foi registrado temperatura mínima de 10°C e máxima de 34,8°C (Tabela 1). Assim, além de prover umidade relativa adequada e proteção contra predadores, o uso de formigueiros para a postura é uma estratégia e *Philodryas patagoniensis* para assegurar uma fonte extra de calor para os ovos, evitando que os mesmos deixem de se desenvolver adequadamente por oscilações bruscas na temperatura.

A postura de 23 ovos registrada neste trabalho é um pouco inferior a maior postura de 26 ovos citada por Vaz-Ferreira *et al.* (1970).

No Brasil, os outros relatos de inquilinismo de incubação envolvendo serpentes e formigas cortadeiras foram feitos por Oliveira e Della-Lucia (1993) para *Philodryas olfersii* e Ghizoni-Jr. *et al.* (2009) para *P. agassizii*. A escassez de registros desta natureza pode ser explicada pela ausência de investigações sistemáticas deste fenômeno em regiões onde as condições climáticas favoreçam este comportamento pelas fêmeas de serpentes, como, por exemplo, na caatinga, sul do Brasil e áreas de altitude.

Tabela 2: Espécies de serpentes envolvidas em inquilinismo de incubação com formigas.

Espécie	Família
Liotyphlops albirostris	Liotyplhopidae
Chironius bicarinatus	Colubridae
Clelia rustica	Colubridae
Phalotris bilineatus	Colubridae
Leptodeira annulata	Colubridae
Liophis jaegeri	Colubridae
Psomophis obtusus	Colubridae
Micrurus frontalis altirostris	Elapidae
Philodryas aestiva	Colubridae
Philodryas patagoniensis	Colubridae
Phylodryas olfersii	Colubridae
Philodryas agassizii	Colubridae
Pseudoboa neuwiedii	Colubridae
Stenorrhina degenhardti	Colubridae
Siphlophis compressus	Colubridae

Philodryas patagoniensis é uma das 15 espécies de serpentes neotropicais (Tabela 2) com registro de inquilinismo de incubação em ninhos de formigas da tribo Attini, e a única até o momento a utilizar o olheiro do ninho como local de incubação.

É possível que interações químicas (feromônios) entre as serpentes e as formigas desempenhem um importante papel na escolha dos ninhos de cortadeiras, além de explicar a ausência de ataques por parte das formigas às mães, aos ovos e às serpentes recém-nascidas (Vaz-Ferreira *et al.,* 1970; Bruner *et al.,* 2012).

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos a Henrique Bartolomeu Pereira Braz e Renato Silveira Bérnils pelas críticas e sugestões.

REFERÊNCIAS

Baer, B., S. P. A. den Boer, D. J. C. Kronauer, D. R. Nash e J. J. Boomsma. 2009. Fungus gardens of the leafcutter ant *Atta colombica* function as egg nurseries for the snake *Leptodeira annulata*. *Insectes Sociaux,* 56(3):289–291.

Brandão, C. R. F. e P. E. Vanzolini. 1985. Notes on incubatory inquilinism between Squamata (Reptilia) and the Neotropical fungus-growing ant genus *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae). *Papéis Avulsos de Zoologia,* 36(3):31-36.

Braz, H. B. P., F. L. Franco, S. M. Almeida-Santos. 2008. Communal egg-laying and nest sites of the goo-eater snake *Sibynomorphus mikanii* (Dipsadidae: Dipsadinae) in southeastern Brazil. *Herpetological Bulletin,* 106:26-30.

Burger, J. e R. T. Zappalorti. 1988. Effects of incubation temperature on sex-ratios in pine snakes: differential vulnerability of males and females. *The American Naturalist,* 132:492–505.

Bruner, G., H. Fernández-Marín, J. C. Touchon e W. T. Wcislo. 2012. Eggs of the Blind Snake, *Liotyphlops albirostris,* Are Incubated in a Nest of the Lower Fungus-Growing Ant, *Apterostigma* cf. *goniodes*. *Psyche,* 1-5.

Ghizoni-Jr., I. R., T. S. Kunz, J. J. Cherem e R. S. Bérnils. 2009. Registros notáveis de répteis de áreas abertas naturais do planalto e litoral do Estado de Santa Catarina, sul do Brasil. *Biotemas,* 22(3):129-141.

Emsley, M. 1977. Snakes, and Trinidad and Tobago. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society,* 13: 201-304.

Hall, P. M. e A. J. Meier. 1993. Reproduction and behavior of western mud snakes (*Farancia abacura reinwarditii*) in American alligator nests. *Copeia,* 1:219-222.

Oliveira, M. A. e T. M. C. Della-Lucia. 1993. Inquilinismo de *Phylodryas olfersii* (Reptilia, Squamata, Colubridae) em ninhos de *Acromyrmex subterraneus* (Hymenoptera, Formicidae, Attini). *Revista Brasileira de Entomologia,* 37(1):113-115.

Riley, J. e J. M. Winch. 1985a. *Leptodeira annulata* Ashmeadi (Trinidad Garden Snake). Eggs. *Herpetological Review,* 16(1):29.

Riley, J. e J. M. Winch. 1985b. *Tripanurgos compressus* (Trinidad Pseudofalse Coral Snake). *Herpetological Review,* 16(1):29.

Riley, J. A. F. Stimson e J. M. Winch. 1985. A review of Squamata oviposition in ant and termite nests. *Herpetological Review,* 16(2):38–43.

Vaz-Ferreira, R., L. C. Zolessi e F. Achaval. 1970. Oviposición y desarrollo de ofidios y lacertilios en hormigueros de *Acromyrmex*. *Physis,* 29:431–459.

Vaz-Ferreira, R., L. C. Zolessi e F. Achaval. 1973. Oviposición y desarrollo de ofidios y lacertilios en hormigueros de *Acromyrmex*. *Trabajos del V Congreso Latinoamericano de Zoologia,* 1:232–244.

Velásquez-Múnera, E., A. Ortiz-Reyes, V. P. Páez e G. E. Guzmán-Restrepo. 2008. Ovoposicion of *Stenorrina degenhardti* (Serpentes: Colubridae) in a nest of *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera: Formicidae). *Actualidades Biológicas,* 30(89):193-195.

Phyllomedusa spp. (Anura, Hylidae): predation by *Leptodeira annulata* (Serpentes, Dipsadidae)

Bruno T. M. Nascimento[1,5], Manuel Mejia[2], Mike Ellis[3] e Fábio Maffei[4]

1 Universidade Sagrado Coração. Rua Irmã Arminda, nº 1.050, Vila Brunhari, CEP 17011-160, Bauru, São Paulo, Brasil. E-mail: tayarbio@gmail.com
2 Universidade de Exeter, Cornwall Campus, Penryn, United Kingdom.
3 Reserva Ecológica Jama-Coaque, Manabí, Ecuador.
4 Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Distrito de Rubião Júnior, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil.
5 Corresponding author.

Leptodeira annulata (Linnaeus, 1758) is one of the most common snakes in the Americas and is found from southern Mexico to Argentina under various subspecies (Dunn, 1936; Duellman, 1958; Scrocchi, 1980). It measures up to 600 mm from snout to vent and is nocturnal and semi-arboreal (Vitt, 1996; Ávila and Morais, 2007). It is a generalist known to feed on lizards (Duellman, 1958; Martins and Oliveira, 1998; Pizzatto and Singer, 2008), especially in the dry season, when the frogs are not active (Duellman, 1958), other snakes in captivity (Skehan, 1959; Petzoldh, 1969) and nature (Pizzatto and Cantor, 2008) and mainly frogs, which apparently correspond to most of the diet of this specie. *Leptodeira annulata* is known to prey on frogs at all stages of development: eggs of the subfamily Phyllomedusinae, specifically *Phyllomedusa* sp. (Duellman,

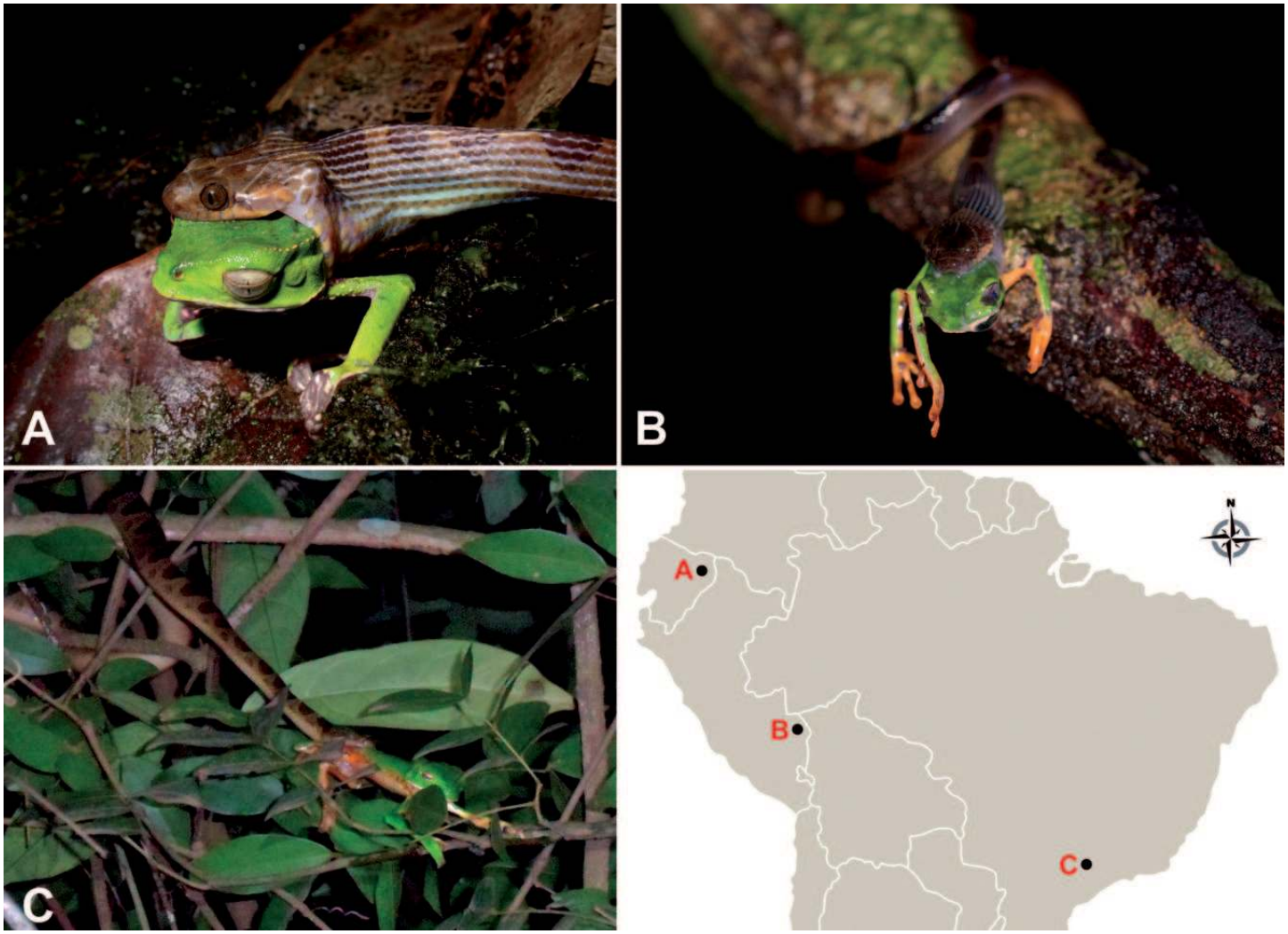


Figure 1: Preys of *Leptodeira annulata:* **(A)** *Phyllomedusa vaillanti* in Yasuni National Park, Ecuador (Photo: Manuel Mejia); **(B)** *Phyllomedusa tomopterna* in Tambopata National Reserve, Peru (Photo: Mike Ellis); **(C)** *Phyllomedusa tetraploidea* in Lençóis Paulista, Brazil (Photo: Tiago Gazoni); and map showing localities from events.

Table 1: Review adult frog species predated by *Leptodeira annulata*.

Prey	Locality	Reference
Bufonidae		
Bufonidae spp.	Southeastern and Central Brazil	Cantor and Pizzatto, 2008
Incilius coccifer	Guanacaste, Costa Rica	McDiarmid and Foster, 1981
Incilius marmoreus	Tehuantepec, Oaxaca, Mexico	Turner, 1958
Incilius valliceps	Santa Cecilia, Ecuador	Duellman, 1958
Rhinella (Bufo) granulosa	Amazon	Vitt, 1996
Rhinella granulosa	Corumbá, Mato Grosso do Sul State, Brazil	Ávila and Morais, 2007
Rhinella margaritifera	Not specified	Duellman, 1958
Rhinella marina	Not specified	Duellman, 1958
Rhinella ornata	Guapimirim, Rio de Janeiro State, Brazil	Vrcibradic *et al.,* 2007
Rhinella sp.	Not specified	Duellman, 1958
Hylidae		
"Hyla" spp.	Not specified	Duellman, 1958
Cruziohyla craspedopus	Amazon Peru	Lamar, 2007
Dendropsophus bokermanni	Santa Cecilia, Ecuador	Duellman, 1978
Dendropsophus marmoratus	Santa Cecilia, Ecuador	Duellman, 1978
Dendropsophus parviceps	Santa Cecilia, Ecuador	Duellman, 1978
Dendropsophus robertmertensi	Not specified	Duellman, 1958
Hylidae spp.	Southeastern and Central Brazil	Cantor and Pizzatto, 2008
Hypsiboas boans	Not specified	Duellman, 1958
Hypsiboas lanciformis	Santa Cecilia, Ecuador	Duellman, 1978
Hypsiboas rosenbergi	Costa Rica	Kluge, 1981
Osteocephalus sp.	Manaus, Amazonas State, Brazil	Martins and Oliveira, 1998
Osteocephalus taurinus	Lucas do Rio Verde, Mato Grosso State, Brazil	Campos *et al.,* 2011
Osteocephalus taurinus	Tarapoto, Peru	Hagman and Schulte, 2007
Phyllomedusa tetraploidea	Lençóis Paulista, São Paulo State, Brazil	Present study
Phyllomedusa tomopterna	Tambopata N. R., Puerto Maldonado, Peru	Present study
Phyllomedusa vaillanti	National Park Yasuni, Orellana, Ecuador	Present study
Scinax boesemani	Amazon	Vitt, 1996
Scinax ruber	Espigão do Oeste, Rondônia State, Brazil	Bernarde and Abe, 2010
Scinax ruber	Not specified	Duellman, 1958
Scinax ruber	Urupá, Rondônia State, Brazil	Silva and Silva, 2010
Scinax staufferi	Not specified	Duellman, 1958
Smilisca baudinii	Catemaco Lake, Veracruz, Mexico	Turner, 1958
Trachycephalus typhonius	Not specified	Duellman, 1958
Leptodactylidae		
Leptodactylidae spp.	Southeastern and Central Brazil	Cantor and Pizzatto, 2008
Leptodactylus andreae	Amazon	Vitt, 1996
Leptodactylus bufonius	Not specified	Duellman, 1958
Leptodactylus fuscus	Amazon	Vitt, 1996
Leptodactylus fuscus	Not specified	Duellman, 1958
Leptodactylus latrans	Not specified	Duellman, 1958
Leptodactylus melanonotus	Not specified	Duellman, 1958
Leptodactylus mystaceus	Amazon	Vitt, 1996
Leptodactylus mystaceus	São Gabriel da Cachoeira, Amazonas State, Brazil	Carvalho *et al.,* 2007
Leptodactylus sp.	Manaus, Amazonas State, Brazil	Martins and Oliveira, 1998
Leptodactylus spp.	Not specified	Duellman, 1958
Microhylidae		
Chiasmocleis panamensis	Gamboa, Panama	Crawford, 2007
Elachistocleis magnus	Espigão do Oeste, Rondônia State, Brazil	Bernarde and Abe, 2010
Synapturanus rabus	Amazon	Vitt, 1996
Ranidae		
Lithobates palmipes	Not specified	Duellman, 1958
Lithobates pipiens	Not specified	Duellman, 1958
Lithobates vaillanti	Laguna Escondida, Veracruz, Mexico	Ramirez *et al.,* 1998
Lithobates vaillanti	Not specified	Mora, 1999
Strabomantidae		
"Eleutherodactylus" sp.	Amazon	Vitt, 1996
Pristimantis altamazonicus	Santa Cecilia, Ecuador	Duellman, 1978

1978), *P. tarsius* (Martins and Oliveira, 1998), *P. camba* (Bernarde and Abe, 2010) and *Agalychnis spurelli* (Vargas and Bolaños, 1999); tadpoles such as *Osteocephalus oophagus* (Jungfer and Weygoldt, 1999) and adult individuals from several species. Here we report the first records of *Leptodeira annulata* preying on adult individuals of three *Phyllomedusa* species and review of adult frog species predated by this snake.

On 24 October 2009 at 21:31 h, an individual *L. annulata* was found preying an adult *Phyllomedusa vaillanti*. The record was made next to a temporary pond within Yasuní National Park (00°40'16.7"S 76°24'1.8"W, a.s.l. 238 m) in Orellana Province, Ecuador. The snake was on the ground, swallowing the treefrog from behind (Figure 1A). The frog was still alive and dragging the snake. After about 15 minutes, the frog was completely swallowed by the snake. The water body was 1 m deep in the rainy season and the marshy bank was primarily composed of grasses, shrubs and trees in primary Amazon forest. Many frogs were regularly found in this puddle, including *Engystomops petersi, Rhinella margaritifera, Hypsiboas geographicus, H. fasciatus, H. lanciformis, Osteocephalus* sp., *Pristimantis* spp., *Bolitoglossa* sp. and several individuals of *P. vaillanti* and frogspawn.

On 2 February 2011 at around 23:00 h, we recorded one individual *L. annulata* preying an individual *Phyllomedusa tomopterna* from behind (Figure 1B). The event occurred in Tambopata National Reserve (12°50'12.16"S 69°17'36.31"W, a.s.l. 206 m), Puerto Maldonado, Peru, in an area of primary lowland Amazon forest. The snake was on a branch 2 m above the water of a temporary rainwater pond. The water body was about 2 m wide by 13 m long and 70 cm deep.

On 29 November 2011 at 23:12 h an individual *L. annulata* was found preying an individual *Phyllomedusa tetraploidea*. The snake was on a branch 4 m over water, swallowing the frog from behind (Figure 1C). The frog resisted for several minutes, holding tightly to a small branch, but was eventually swallowed. The record was made at Rio Claro Farm in Lençóis Paulista, São Paulo State, Brazil (22°46'35.47"S 48°53'52.54"W, a.s.l. 650 m) in riparian forest at the edge of a semi-permanent water body, in a transition area between the Cerrado and Atlantic Forest. *Phyllomedusa tetraploidea* are plentiful at the site and about 20 males were vocalizing the night of this record.

On December 04, 2012, at 23:15 h, in this same location a young male *L. annulata* was found chasing a male of *P. tetraploidea*. The treefrog was at a height of 1.5 m vocalizing over a wide sheet of a typical plant of the flooded areas. The snake slowly chased behind the anuran. After about 5 min the snake struck the bite, but the frog jumped turning back hitting the ground. After about 2 min, the snake fell to the ground where it went in the opposite direction of the treefrog. Minutes later, the treefrog returned to vocalize normally.

Records in the literature describe about 40 adult frog species in the diet of *L. annulata* (Table 1). These species are distributed in six families (Bufonidae, Hylidae, Leptodactylidae, Microhylidae, Ranidae, and Strabomantidae). Apparently, *L. annulata* has no preference for animals of arboreal or terrestrial habit. When it comes to the family Hylidae, most of species predated do not have large poison glands, but *Cruziohyla craspedopus, Smilisca baudinii* and *Trachycephalus typhonius,* which possess numerous well-developed venom glands (Duellman, 1956). *Leptodeira annulata* predation on adult *Phyllomedusa* spp. has not previously been reported and this may be associated with the poison found in the skin of these species. By releasing odors and fluid these frogs are considered highly unpleasant and are avoided by predators usual amphibians (Sazima, 1974). Treefrogs of Phyllomedusinae possess venom glands in the skin and secrete peptides such as bradykinin, which modifies cardiac function (Sazima, 1974; Zug et al, 1993), and dermorphin, a peptide that causes analgesia and catalepsy (Negri *et al.,* 1992). Sazima (1974) described in detail an experiment where most individuals of *Liophis miliaris* refused to consume *P. rhodei,* since those individuals that the snake showed visible signs of discomfort, and some later regurgitated the prey.

Toxins found in the skin of the three species of *Phyllomedusa* presented in this work may not be sufficient to avoid predation by *L. annulata*. This snake is an opisthoglyphous species, with relatively simple venom composition when compared with other poisons (Mebs, 1968). Thirteen species present on the list of prey have chemical defense. This snake is probably to the frogs' secretions, allowing predation on these species of frogs. Reports in the literature show that some snakes of the genus *Chironius* apparently have adaptations that minimize or eliminate the effects of peptides secreted by *Phyllomedusa*. Bernarde and Abe (2010) reported predation by *Chironius scurrulus* on *P. camba* and Castanho (1996) recorded *Chironius exoletus* preying on *P. distincta,* being some of the few known cases where snakes prey on adult frogs of the genus *Phyllomedusa*.

Our reports support current knowledge about both groups, but further studies are necessary to determine the relative contribution of *Phyllomedusa* spp. to *L. annulata* diets in the wild, and the mechanisms used by this species to avoid the effects of the frogs' chemical defenses.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Duratex S.A. and FUNDIBIO for research support at Rio Claro Farm; Tiago Gazoni and Maurício Papa de Arruda for their help in fieldwork; Luciano Castanho and Gustavo Scrocchi for the supplied papers. We thank Tatiana Pimentel Chinellato for the review and suggestions in English text. FM thanks CAPES for a researcher fellowship.

REFERENCES

Ávila, R. W. and Morais, D. 2007. Notes on the ecology of the colubrid snake *Leptodeira annulata* in the Pantanal, Brazil. *Herpetological Review,* 38:278-280.

Bernarde, P. S. e Abe, A. S. 2010. Hábitos alimentares de serpentes em Espigão do Oeste, Rondônia, Brasil. *Biota Neotropica,* 10:167-173.

Campos, V. A., Santos, M. M. and Strüssmann, C. 2011. *Osteocephalus taurinus* (Manaus slender-legged treefrog) Predation. *Herpetological Review,* 42:412.

Cantor, M. e Pizzatto, L. 2008. *Leptodeira annulata*. Diet. *Herpetological Review,* 39:462-463.

Carvalho, V. T; Bonora, L. and Vogt, R. C. 2007. *Leptodeira annulata* (banded cat-eyed snake). Diet. *Herpetological Review,* 38:89.

Castanho, L. M. 1996. *Phyllomedusa distincta* (leaf-frog). Predation. *Herpetological Review,* 27:141.

Crawford, A. J. 2007. *Chiasmocleis panamensis* (Panama humming frog). Predation. *Herpetological Review,* 38:181

Duellman, W. E. 1956. The frogs of the hylid genus *Phrynohyas* Fitzinger, 1843. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan,* 96:1-47.

Duellman, W. E. 1958. A monographic study of genus *Leptodeira*. *Bulletin of the American Museum of Natural History,* 114:5-152.

Duellman, W. E. 1978. The biology of an equatorial herpetofauna in Amazonian Ecuador. *Miscelaneous Publication University of Kansas, Museum of Natural History,* 1-352.

Dunn, E. R. 1936. Notes on North American *Leptodeira*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 22:689-698.

Hagman, M. and Schulte, R. 2007. *Leptodeira annulata* (banded cat-eyed snake). Prey. *Herpetological Review,* 38:90.

Jungfer, K. H. and Weygoldt, P. 1999. Biparental care in the tadpole-feeding Amazonian treefrog *Osteocephalus oophagus*. *Amphibia-Reptilia,* 20:235-249.

Kluge, A. G. 1981. The life history, social organization, and parental behavior of *Hyla rosenbergi* Boulenger, a nest building gladiator frog. *Miscelaneous Publication, Museum of Zoology, University of Michigan,* 160:1-170.

Lamar, W. W. 2007. About our cover: *Cruziohyla craspedopus*. *Herpetological Review,* 38:1.

Martins, M. and Oliveira M. E. 1998. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. *Herpetological Natural History,* 6: 78-150.

Mebs, D. 1968. Analysis of *Leptodeira annulata* venom. *Herpetologica,* 24:338-339.

Mcdiarmid, R. W and Foster, M. S. 1981. Breeding habits of the toad *Bufo coccifer* in Costa Rica, with a description of the tadpole. *The Southwestern Naturalist,* 26:353-363.

Mora, J. M. 1999. *Leptodeira annulata* (culebra desteñida, banded cat-eyed snake). Diet. *Herpetological Review,* 30:102.

Negri, L; Erspamer, G. F; Severini, C; Potenza, R. L; Melchiorri, P. and Erspemer, V. 1992. Dermorphin-related peptides from the skin of Phyllomedusa bicolor and their amidated analogs activate two μ opioid receptor subtypes that modulate antinociception and catalepsy in the rat. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 89: 7203-7207.

Petzoldh, G. 1969. Observations on the reproductive biology of the American ringed snake *Leptodeira annulata* at East Berlin Zoo. *International Zoo Yearbook,* 9:54-56.

Ramirez, J. R.; Vogt, R. C. and Benitez, J. L. V. 1998. Population biology of a neotropical frog (*Rana vaillanti*). *Journal of Herpetology,* 32:338-344.

Sazima, I. 1974. Experimental predation on the leaf-frog *Phyllomedusa rohdei* by the water snake *Liophis miliaris*. *Journal of Herpetology,* 8:376-377.

Scrocchi, G. J. 1980. Nuevos datos sobre *Leptodeira annulata pulchriceps* Duellman (Ophidia: Colubridae) en Argentina. *Acta Zoologica Lilloana,* 36:149-151.

Skehan, P. 1958. Ophiophagy in *Leptodeira*. *Herpetologica,* 15:160.

Silva, F. C. and Silva, M. O. 2010. Predação de *Scinax ruber* (Anura, Hylidae) por *Leptodeira annulata* (Colubridae), em ambiente de floresta ciliar no município de Urupá, Rondônia. *Ciência & Consciência,* 1.

Turner, F. B. 1958. Food of *Leptodeira annulata cussiliris*. *Herpetologica,* 14:192.

Vargas, S. F. and Bolaños, M. E. 1999. Contribuición al conocimiento de los reptiles presentes en la región de Anchicaya a través de um gradiente de deflorestación. Caldasia. 21: 235-238.

Vitt, L. J. 1996. Ecological observations on the tropical colubrid snake *Leptodeira annulata*. *Herpetological Natural History,* 4:69-76.

Vrcibradic, D.; Siqueira, C. C.; Rocha, C. F.; Sluys, M. V. and Pontes, J. A. L. 2007. *Leptodeira annulata* (banded cat-eyed snake). Size, reproduction, and prey. *Herpetological Review,* 38:89.

Zug, G. R.; Vitt, L. J. and Caldwell, J. P. 1993. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic Press, San Diego. 527pp.



Aparasphenodon arapapa, Acuipe, Ilhéus, BA (Foto: M. Solé)

HERPETOLOGIA BRASILEIRA

Uma Publicação da Sociedade Brasileira de Herpetologia

Instruções para Autores

INSTRUÇÕES GERAIS

Para sugerir informação ou temas a serem incluídos nas seções de Notícias, Trabalhos Recentes e Mudanças Taxonômicas, entre em contato com os Editores responsáveis da seção correspondente.

Para todas as outras seções, os manuscritos devem ser submetidos via correio eletrônico para os Editores indicados para cada seção (*ver Corpo Editorial*). Os artigos devem ser escritos somente em português, exceto para as seções de História Natural e Métodos, que também publicarão contribuições em inglês. Todos os artigos devem incluir o título, os autores com filiação, o corpo do texto, os agradecimentos e a lista de referências bibliográficas. **Os manuscritos em inglês que não atingirem o nível de gramática e ortografia semelhante ao de uma pessoa nativa de pais de língua inglesa serão devolvidos para correção ou tradução para português.**

Referências Bibliográficas

As citações no texto devem ser organizadas primeiro em ordem cronológica e segundo em ordem alfabética, de acordo com o seguinte formato: Silva (1998)..., Silva (1999: 14-20)..., Silva (1998: figs. 1, 2)..., Silva (1998a, b)..., Silva e Oliveira (1998)..., (Silva e Oliveira, 1998a, b; Adams, 2000)..., (H. R. Silva, com. pes.)..., e Silva *et al.* (1998) para mais de dois autores.

A seção de Referências Bibliográficas deve ser organizada primeiro em ordem alfabética e, em seguida, em ordem cronológica, de acordo com o seguinte formato:

Artigo de revista:
Silva, H. R., H. Oliveira e S. Rangel. Ano. Título. *Nome completo da revista,* 00:000-000.

Livro:
Silva, H. R. Ano. Título. Editora, Lugar, 000 pp.

Capítulo em livro:
Silva, H. R. Ano. Título do capítulo; pp. 000-000. *In:* H. Oliveira, e S. Rangel (Eds.), Título do Livro. Editora, local.

Dissertações e teses:
Silva, H. R. Ano. Título. Tese de doutorado ou Dissertação de mestrado, Universidade, local, 000 pp.

Página de Internet:
Silva, H. R. Data da página. Título da seção ou página particular. Título da página geral. Data da consulta, URL.

Apêndices, tabelas, legendas das figuras

Esses itens devem ser organizados em sequência, depois das Referências Bibliografias.

Apêndices

Os apêndices devem ser numerados usando números romanos na mesma sequência em que aparecem no texto. Por exemplo, Apêndice I: Espécimes Examinados.

Tabelas

As tabelas devem ser numeradas na mesma sequência em que aparecem no texto. Devem ser formatadas com linhas horizontais e sem linhas verticais.

Figuras

As figuras devem ser numeradas na mesma sequência em que aparecem no texto. As legendas devem incluir informação suficiente para que sejam entendidas sem que seja necessária a leitura do corpo do texto. Figuras compostas devem ser submetidas como um arquivo único. Cada parte de uma figura composta deve ser identificada (preferencialmente com letra maiúscula Arial de tamanho 8-12 pontos) e descrita na legenda. As figuras devem ser submetidas em arquivos separados de alta resolução (300 dpi e tamanho de impressão de pelo menos 18 cm de largura) em formato JPEG ou EPS.

Instruções especiais para Notas de História Natural

No corpo do texto, os autores devem indicar claramente a relevância da observação descrita. O uso de figuras deve ser encorajado. O título deve iniciar com a espécie alvo da nota, seguida pela posição taxonômica e pelo assunto (incluindo a identidade do predador, parasita etc., ao menor nível taxonômico possível). Veja exemplos neste número.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA