Mauricio da Cruz Forlani

Morfologia do gênero *Chiasmocleis* Méhely,
1904 (Anura, Microhylidae, Gastrophryninae),
e suas implicações filogenéticas.

Morphology of the genus *Chiasmocleis*
Méhely, 1904 (Anura, Microhylidae,
Gastrophryninae), and its phylogenetic
implication.

São Paulo

2010

Mauricio da Cruz Forlani

Morfologia do gênero *Chiasmocleis* Méhely,
1904 (Anura, Microhylidae, Gastrophryninae),
e suas implicações filogenéticas.

Morphology of the genus *Chiasmocleis*
Méhely, 1904 (Anura, Microhylidae,
Gastrophryninae), and its phylogenetic
implications.

Dissertação apresentada ao Instituto
de Biociências da Universidade de
São Paulo, para a obtenção de Título
de Mestre em Ciências, na Área de
Zoologia.

Orientador(a): Hussam El Dine Zaher

São Paulo

2010

Forlani, Mauricio da Cruz
Morfologia do gênero *Chiasmocleis*
Méhely, 1904 (Anura, Microhylidae,
Gastrophryninae), e suas implicações
filogenéticas.
138 pp.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Zoologia.

1. Chiasmocleis 2. Microhylidae 3.
Filogenia I. Universidade de São Paulo.
Instituto de Biociências. Departamento de
Zoologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Hussam El Dine Zaher
Orientador

Aos meus pais pelo apoio
e confiança nas minhas escolhas.
Aos meus avós pelo exemplo de vida

Agradecimentos

Agradeço a minha família pela constante força e apoio durante esses anos. Aos meus pais pela compreensão, carinho e incentivo eterno.

Ao meu orientador, Hussam Zaher, pelos anos de trabalho e constante aprendizado, por ser um grande facilitador em todas as ações e relações com o mundo fora do MZUSP. Por estar presente quando não há mais tempo. Esta colaboração me proporcionou um enorme crescimento pessoal e profissional, e hoje mais do que nunca sei reconhecer o papel dessa pessoa no meu caminho acadêmico.

Ao Ricardo Guerra Fuentes (gringo), por tentar me ensinar a arte da paciência e pela ajuda imensurável na preparação dos exemplares. Pelo empréstimo daquela tesourinha que nem para a mãe dele ele emprestava. Pelas longas conversas sobre o processo “x” da crista “y”, e viajar junto comigo nos momentos de devaneio mental. Pelo seu lado mais característico, de mostrar que o que eu via não era a única hipótese, sempre existe algo além.

À Paola S. Martinez, a “chica” de nossos corações, parceira de mesmo barco, pessoa insubstituível nas conversas matinais, com as idéias fresquinhas e pelas constantes discussões sobre os problemas que nos afligiam na nossa jornada. Pelos sorvetes, balas, chocolates e todos os doces que comemos nesses últimos anos.

Ao irmão Pedro Bernardo, por estar sempre ao meu lado, me empurrando, ensinando, e ajudando quando a coisa complica. Devo muito a você, irmão.

Ao Alberto Carvalho, que, como ninguém, consegue reconhecer em pequenos pedaços as estruturas importantes dos anuros.

Aos demais colegas de laboratório, Beta (Roberta G. Mendes) pelas risadas constantes, por compartilhar o material escolar; Matheus Pires pelas histórias incríveis e

momentos de descontração; Felipe Grazziotin por estar sempre disposto a uma boa discussão; Leo Oliveira por agüentar de perto a loucura da reta final sem reclamar. Giovanna Montingelli pelas longas conversas sobre a política acadêmica; Fabio Macho por acreditar nas minhas idéias e ver nelas fontes produtivas de trabalho. Luciana Lobo, Vivian Trevine, Marcelo Garrone, Juan Camilo, Pirula, Willian, e todos demais colegas de laboratório que fizeram estes anos mais alegres e divertidos. A Carolina Mello, amiga e profunda conhecedora da coleção do MZUSP, obrigado pela ajuda constante, pelos almoços na sala técnica e pelo seu esforço com a coleção.

Agradeço muito ao professor Rafael O de Sá, por me receber de portas abertas em seu laboratório e na sua casa. Por acreditar e apostar na minha capacidade. Sua contribuição para o meu crescimento na compreensão da osteologia dos anuros foi sem dúvida alguma, imprescindível.

Um agradecimento especial ao prof. Carlos Cruz, que teve paciência de sentar-se à lupa e discutir comigo questões taxonômicas. Ao amigo e prof. Paulo Garcia, por me demonstrar que não ver certas estruturas, muitas vezes é uma questão de experiência, e que paciência e muito estudo ampliam a sua visão.

À amiga e colega da gema Mariane, com quem compartilhei muitas dúvidas e questões interessantes sobre os Microhylidae. As intensas conversas virtuais e longos e-mails ajudaram, e muito, o desenvolvimento deste trabalho.

À Erika Hingst-Zaher, por fazer dos domingos de trabalho dias tão agradáveis como a sexta-feira, pela ajuda constante em textos e por acreditar nas minhas capacidades e confiar nas minhas atitudes.

Agradeço a todos os curadores das coleções que emprestaram espécimes para este trabalho: Célio Haddad, Pombal Jr., Marcelo Napoli, Darrel Frost, Ron Heyer, Renato Feio, Denise Rossa-Feres, Paulo Bernardes, Gustavo Schrocchi.

A todos os funcionários do MZUSP, em especial a Dona Zina e Dona Isabel, que aturavam as loucuras e bagunças da herpetologia. À Dione Seripierri, por encontrar aquela referência sem nenhuma referência, por se mostrar sempre disposta a ajudar e fazer qualquer busca bibliográfica um momento de alegria.

Aos docentes, funcionários e demais alunos do Museu de Zoologia da USP por proporcionar um ambiente estimulante e acolhedor do qual me beneficieei com grande satisfação.

À FAPESP pela bolsa concedida para a realização do mestrado. Agradeço à comissão e aos docentes do Programa de Pós-Graduação da USP pelo desempenho e pela contribuição feita ao desenvolvimento do meu Mestrado.

Índice

1.	Introdução	1
2.	Objetivos.....	8
3.	Material e Métodos	9
3.1.	Seleção dos Táxons	9
3.2.	Levantamento dos caracteres	12
3.3.	Preparação do Material Osteológico	13
3.4.	Análise Filogenética.....	17
3.5.	Análise do Padrão de Distribuição do Gênero <i>Chiasmocleis</i>	18
4.	Resultados.....	19
4.1.	Padrão de Distribuição do Gênero <i>Chiasmocleis</i>	19
4.2.	Descrição da osteologia de <i>Chiasmocleis albopunctata</i>	21
4.3.	Dimorfismo Sexual no gênero <i>Chiasmocleis</i>	29
4.4.	Apresentação dos caracteres filogenéticos	30
4.4.1.	Caracteres Externos	30
4.4.2.	Caracteres osteológicos.....	52
5.	Análise Filogenética	73
6.	Discussão	77
6.1.	Monofiletismo do gênero <i>Chiasmocleis</i>	77
6.1.1.	Monofiletismo dos grupos filéticos de espécies da Mata Atlântica.....	81
6.1.2.	Posicionamento de <i>Chiasmocleis</i> no clado americano	81
6.2.	Relação do gênero <i>Chiasmocleis</i> com os demais gêneros americanos	82
6.3.	Variação Morfológica e Tendência Evolutiva na Irradiação dos Microhylídeos Americanos	84
6.3.1.	Cintura Escapular.....	85
6.3.2.	Coluna vertebral.....	87
6.3.3.	Miniaturização	88
7.	Conclusões.....	91
8.	Resumo	92
9.	Abstract.....	93
10.	Figuras	94
11.	Anexo I.- Lista do material utilizado para análise da morfologia externa.	122
12.	Anexo II.- Lista do material utilizado para análise osteológica.	123
13.	Anexo III. - Material analisado para a confecção dos mapas.....	125
14.	Anexo IVMatriz de caracteres	128
15.	Referências Bibliográficas.....	131

1. Introdução

Dentre as 49 famílias reconhecidas para os anuros, a família Microhylidae se destaca pela sua grande diversidade morfológica e ecológica. Atualmente esta família é composta por 68 gêneros e 466 espécies, alocadas em 11 subfamílias (Asterophryinae, Cophylinae, Dyscophinae, Gastrophryninae, Hoplophryninae, Kalophryninae, Melanobatrachinae, Microhylinae, Otophryninae, Phrynomerinae e Scaphiophryninae), e distribuídas pelas três Américas, África sub-saariana, Madagascar, sudeste Asiático e norte da Austrália (Frost, 2010). Dos 68 gêneros, 20 ocorrem no Novo Mundo, sendo dois na América do Norte e América Central (*Gastrophryne*, *Hypopachus*), quatro pela América Central e América do Sul (*Chiasmocleis*, *Elachistocleis*, *Nelsonophryne*, *Relictivomer*) e 14 estão restritos à América do Sul (*Adelastes*, *Altigius*, *Arcovomer*, *Ctenophryne*, *Dasypops*, *Dermatonotus*, *Hamptophryne*, *Hyophryne*, *Melanophryne*, *Myersiella*, *Otophryne*, *Stereocyclops*, *Synapturanus*, *Syncope*).

A maioria dos microhilídeos apresenta tamanho reduzido (9 a 100 mm), e são essencialmente terrestres ou semi-fossoriais, embora existam gêneros arborícolas. A diversidade morfológica dentro da família é marcante, com espécies de corpo achatado ou globoso com a cabeça pequena e afinada, até espécies com corpo reduzido e delgado. As espécies totalmente arborícolas apresentam discos digitais desenvolvidos, enquanto que as espécies terrestres possuem dedos longos, sem quaisquer expansões (Duellman & Trub, 1986). A grande diversidade de habitats utilizados pelos microhilídeos e sua morfologia diversificada fazem com que não haja um padrão ecológico ou morfológico uniforme para a família (Wu, 1994).

As diferenças osteológicas encontradas entre as espécies de Microhylidae atingem um grau raramente visto em outras famílias de anuros (Parker, 1934). Um reflexo desta

variação osteológica é o número proporcionalmente alto de gêneros monotípicos (Wild, 1995). Dois fatores contribuem para esta característica do grupo: a evolução repetida da fossorialidade, com a presença de um mosaico de características ligadas a este hábito, principalmente no que diz respeito à ossificação do crânio (Emerson, 1971), e o tamanho reduzido de diversas espécies. O entendimento das causas da grande variabilidade morfológica passa pela determinação da relação entre forma, tamanho e hábitos, necessitando de conhecimento adicional sobre o comportamento, ecologia e morfologia de diversos gêneros, de forma que as hipóteses que explicam a evolução da forma e a diversidade morfológica no grupo possam ser testadas dentro de um arcabouço filogenético.

Comparando com a maioria dos anuros do Novo Mundo, os microhilídeos são relativamente raros na natureza, provavelmente devido ao hábito fossorial e curta temporada de reprodução (reprodução explosiva) observado na maioria das espécies. Estes fatores podem explicar a carência de estudos taxonômicos e sistemáticos e a pequena quantidade de representantes da família na maioria das coleções (Duellman & Trueb, 1986).

Trabalhos filogenéticos abordando o relacionamento dos táxons alocados dentro da família Microhylidae são limitados (Parker, 1934; Zweifel, 1986; Donnelly *et al.*, 1990; Wu, 1994; Wild, 1995; Greenbaum, 2006; Frost, *et al.*, 2006; Van der Meijden *et al.*, 2007). O primeiro trabalho clássico, e ainda hoje bastante utilizado, consiste na revisão realizada por Parker (1934), onde foram reconhecidos 43 gêneros e 191 espécies alocadas em sete subfamílias. Parker (1934) define a família Microhylidae a partir da combinação de 12 caracteres não exclusivos.

Wu (1994) realizou uma extensa análise morfológica da família Microhylidae que abrangeu 188 caracteres para 105 espécies pertencentes a 56 gêneros. Nesta análise, os

gêneros *Hemisus* e *Rhynophryne* agruparam com os táxons da família Brevicipitidae, levando o autor a considerar a família Microhylidae como sendo polifilética. Das sete subfamílias reconhecidas por Parker (1934), Wu reconheceu apenas Cophylinae e Microhylinae.

Recentemente, Frost *et al.* (2006) combinaram os caracteres morfológicos larvais de Haas (2003) a uma análise molecular e encontraram 30 sinapomorfias morfológicas para a família. Nesta análise, Microhylidae emerge como o grupo-irmão de um clado formado pelas famílias Hemisotidae, Brevicipitidae, Hyperoliidae e Arthroleptidae.

O estudo exclusivo das relações entre os microhilídeos neotropicais teve seu início com Zweifel (1986), que assumiu o monofiletismo dos microhilídeos neotropicais (Figura 1). A principal sinapomorfia apontada por Zweifel (1986) para o clado dos microhilídeos do Novo Mundo é a frequência de um cariótipo com 22 cromossomos, condição ausente nos gêneros do Velho Mundo. Trabalhos mais recentes envolvendo este grupo de microhilídeos foram realizados por Donnelly *et al.* (1990) e Wild (1995) (Figura 2). O primeiro estudo analisou detalhadamente a morfologia dos girinos, enquanto que o segundo apresentou uma filogenia embasada nas informações morfológicas levantadas por Zweifel (1986) e Donnelly *et al.* (1990). A análise filogenética apresentada por Wild (1995) sustenta o monofiletismo dos microhilídeos neotropicais proposto por Zweifel (1986). Entretanto, estes trabalhos ainda sofrem de uma amostragem limitada, tanto de táxons pertencentes a outras subfamílias, como de caracteres morfológicos, a maioria deles extraído do trabalho do Zweifel (1986).

Das 34 espécies de Microhylidae utilizadas por Frost *et al.* (2006), nove pertencem aos gêneros americanos *Synapturanus*, *Ctenophryne*, *Nelsonophryne*, *Dasylops*, *Hamptophryne*, *Elachistocleis*, *Dermatonotus* e *Gastrophryne*. Esta análise corroborou o parafiletismo da subfamília Microhylinae, proposta inicialmente por

Parker (1934), que agrupava todos os gêneros asiáticos e americanos (Figura 3). Com exceção de *Synapturanus*, que reteve uma posição basal na família, a linhagem americana dos microhilídeos formou um clado reconhecido por Frost *et al.* (2006) como a subfamília Gastrophryninae.

Posteriormente, Van der Meijden *et al.* (2007) testaram o monofiletismo das subfamílias propostas por Frost *et al.* (2006) através uma análise filogenética molecular (Figura 4) que incluiu 34 espécies de microhilídeos, corroborando os seus resultados. Assim como no trabalho de Frost *et al.* (2006), os microhilídeos da subfamília Gastrophryninae não foram adequadamente amostrados, incluindo apenas oito espécies pertencentes aos gêneros *Otophryne*, *Hypopachus*, *Gastrophryne*, *Dermatonotus*, *Elachistocleis*, *Hamptophryne* e *Chiasmocleis*. Os microhilídeos americanos se agruparam num clado monofilético, com exceção de *Otophryne* que se posicionou claramente fora de ambos os grupos de Microhylinae asiáticos e Gastrophryninae americanos (Figura 4). A designação de uma subfamília a parte para alocar o gênero *Otophryne* (Otophryninae) já havia sido proposta por Wassersug e Pyburn, (1987). Na análise de Van der Meijden *et al.* (2007), Gastrophryninae emergiu como sendo o grupo-irmão da subfamília africana Phrynomerinae. As relações internas, no que diz respeito aos táxons também analisados por Frost *et al.* (2006), são consistentes com esta análise e a subfamília Gastrophryninae é composta pela somatória de gêneros utilizados por ambos os trabalhos. Devido à ausência de oito gêneros nas análises de Frost *et al.* (2006) e Van der Meijden *et al.* (2007), e o não agrupamento de *Synapturanus* aos demais gêneros americanos, os gêneros *Adelastes*, *Arcovomer*, *Altigius*, *Hyophryne*, *Myersiella*, *Relictivomer*, *Synapturanus*, *Stereocyclops* e *Syncope* ficaram sem alocação subfamiliar.

O gênero *Chiasmocleis*

Dentre os 20 gêneros de Microhylidae reconhecidos para o Novo Mundo, o gênero *Chiasmocleis* é considerado o mais diversificado, contendo 25 espécies (Frost, 2010) amplamente distribuídas pela América do Sul ao leste dos Andes e sul da América Central. Dessas espécies, apenas uma ocorre nas áreas abertas do Panamá, enquanto 10 distribuem-se pela Floresta Amazônica, 11 ocorrem por todo o bioma da Floresta Atlântica e três estão associadas aos biomas abertos do Cerrado brasileiro e do Chaco Boliviano e Paraguai (Caramaschi & Cruz, 2001; Frost, 2010).

Até a presente data não foi realizada nenhuma revisão taxonômica que abordasse todos os táxons presentes no gênero *Chiasmocleis*. Entretanto, vários trabalhos pontuais publicados recentemente (Caramaschi & Cruz, 1997, 2001; Cruz *et al.*, 1997, 1999; Van Sluys, 1998; Pimenta *et al.*, 2002; Caramaschi & Pimenta, 2003; Canedo *et al.*, 2004) forneceram uma base taxonômica robusta para o gênero, aumentando significativamente o número de espécies descritas. Cruz *et al.* (1997) propõem a divisão do gênero dentro da Mata Atlântica em dois grupos morfologicamente distintos, separados pelo grau de desenvolvimento das membranas nos artelhos. O primeiro grupo é caracterizado por apresentar membranas interdigitais desenvolvidas nos artelhos (*Chiasmocleis capixaba*, *C. leucosticta*, *C. mantiqueira*, *C. cordeiroi*, *C. crucis* e *C. sapiranga*), enquanto o segundo grupo inclui as espécies com membranas basais ou ausentes (*C. carvalhoi*, *C. schubarti*, *C. atlantica* e *C. alagoanus*).

As relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Chiasmocleis* e o seu posicionamento na irradiação de microhilídeos americanos ainda não estão bem definidas. Segundo Carvalho (1954), os gêneros *Hamptophryne* e *Arcovomer* estão mais proximamente relacionados com o gênero *Chiasmocleis*. Esta hipótese não foi descartada na filogenia produzida pelo Zweifel (1986), onde *Chiasmocleis* se posiciona

em uma politomia junto com os gêneros *Syncope*, *Hamptophryne*, *Arcovomer* e *Adelastes* (Figura 1).

Através de dados morfológicos de girinos, Donnelly *et al.* (1990), assumem que *Hamptophryne* é o grupo-irmão de *Chiasmocleis*, porém, este resultado diverge do apresentado por Wild (1995), que reconhece o gênero *Chiasmocleis* como pertencendo a um clado formado por *Adelastes*, *Syncope*, *Chiasmocleis* e *Arcovomer*, o gênero *Hamptophryne* ficando apenas distantemente posicionado (Figura 2).

Diferentemente dos resultados morfológicos, os resultados das análises moleculares apresentadas por Greenbaum (2006), posicionam o gênero *Syncope* dentro do clado formado pelas espécies de *Chiasmocleis* (Figura 5). Entretanto, a resolução limitada apresentada por esta filogenia molecular sugere que seus resultados devem ser interpretados com cautela até que uma amostragem de táxons mais completa seja considerada.

A hipótese molecular que definiu a subfamília Gastrophryninae (Frost *et al.*, 2006) não incluiu o gênero *Chiasmocleis*. A inclusão de *Chiasmocleis* em análises robustas a partir de dados moleculares foi realizada por Van der Meijden *et al.* (2007), posicionando-o na base da subfamília Gastrophryninae (Figura 4).

Chiasmocleis é o gênero com maior diversidade entre os microhilídeos do Novo Mundo. Esse gênero foi objeto de revisões taxonômicas recentes, sedimentando uma base taxonômica sólida que permite uma abordagem filogenética objetiva das 25 espécies reconhecidas. O gênero carece ainda de uma análise filogenética que proponha uma hipótese de parentesco robusta entre as espécies, teste objetivamente o seu monofiletismo e o posicione dentro da irradiação de microhilídeos neotropicais. O presente trabalho tem como objetivo contribuir para esta questão através do estudo da

morfologia externa, craniana, vértebral e apendicular do maior número de espécies pertencentes a este gênero.

2. Objetivos

- Através de análise cladística, testar o monofiletismo do gênero *Chiasmocleis*, e avaliar a relação entre espécies do gênero, além de posicionar *Chiasmocleis* dentro da irradiação de microhilídeos do Novo Mundo.
- Estudar a variação morfológica do gênero *Chiasmocleis*, utilizando dados da sua morfologia externa e osteologia.
- Descrever detalhadamente a osteologia de *Chiasmocleis albopunctata*.

3. Material e Métodos

3.1. Seleção dos Táxons

Dezoito das 25 espécies do gênero *Chiasmocleis* foram utilizadas para reconstruir a história filogenética do grupo, com base em caracteres osteológicos e de morfologia externa. Na tentativa de encontrar possíveis variações individuais, sempre que possível foram utilizados mais de um exemplar por espécie. Devido à indisponibilidade de material para análise, as espécies *Chiasmocleis anapetes*, *C. centralis*, *C. crucis*, *C. devriesi*, *C. gnoma*, *C. atlântica*, *C. sapiranga* não foram utilizadas nas comparações diretas (Tabela 1). Infelizmente, esse é um problema recorrente em trabalhos que incluem o estudo de espécies pouco frequentes em coleções zoológicas e de difícil obtenção no campo.

A amostragem de táxons fora do grupo de interesse (grupo externo) focou-se nos membros da subfamília Gastrophryninae e demais gêneros de microhilídeos americanos (Tabela 2) que não pertencem a nenhuma das subfamílias sugeridas pelas propostas filogenéticas de Frost *et al.* (2006) e Van der Meijden *et al.* (2007). Dos 20 gêneros com distribuição nas Américas, dezesseis foram empregados na análise, ficando de fora apenas *Melanophryne*, *Adelastes*, *Altigius* e *Otophryne* (Tabela 2). Com exceção de *Adelastes*, todos os gêneros historicamente relacionados ao gênero *Chiasmocleis* (Zweifel, 1986; Wild, 1995; Wu, 1994; Greenbaum, 2006; Van der Meijden *et al.*, 2007) foram incluídos na análise filogenética. Desta maneira, o monofiletismo do gênero pôde ser testado a contento. Entretanto, com esse conjunto de dados, não foi possível testar o monofiletismo da subfamília Gastrophryninae, e posicionar os gêneros

sem alocação subfamiliar (isto é, *Arcovomer*, *Adelastes*, *Altigius*, *Melanophryne*, *Hyophryne*, *Myersiella*, *Relictivomer*, *Stereocyclops*, *Synapturanus* e *Syncope*).

Tabela 1: Lista das espécies atualmente reconhecidas para o gênero *Chiasmocleis* e seus respectivos autores e ano de publicação. As espécies presentes no quadro azul foram utilizadas na presente análise, as espécies no quadro cinza não foram utilizadas.

Espécies
<i>Chiasmocleis alagoanus</i> Cruz, Caramaschi, and Freire, 1999
<i>Chiasmocleis albopunctata</i> (Boettger, 1885)
<i>Chiasmocleis avilapiresae</i> Peloso and Sturaro, 2008
<i>Chiasmocleis bassleri</i> Dunn, 1949
<i>Chiasmocleis capixaba</i> Cruz, Caramaschi and Izecksohn, 1997
<i>Chiasmocleis carvalhoi</i> Cruz, Caramaschi and Izecksohn, 1997
<i>Chiasmocleis cordeiroi</i> Caramaschi and Pimenta, 2003
<i>Chiasmocleis hudsoni</i> Parker, 1940
<i>Chiasmocleis jimi</i> Caramaschi and Cruz, 2001
<i>Chiasmocleis leucosticta</i> (Boulenger, 1888)
<i>Chiasmocleis magnova</i> Moravec and Köhler, 2007
<i>Chiasmocleis mantiqueira</i> Cruz, Feio and Cassini, 2007
<i>Chiasmocleis mehelyi</i> Caramaschi and Cruz, 1997
<i>Chiasmocleis panamensis</i> Dunn, Trapido and Evans, 1948
<i>Chiasmocleis schubarti</i> Bokermann, 1952
<i>Chiasmocleis shudikarensis</i> Dunn, 1949
<i>Chiasmocleis superciliarbus</i> Morales and McDiarmid, 2009
<i>Chiasmocleis ventrimaculata</i> (Andersson, 1945)
<i>Chiasmocleis anatipes</i> Walker and Duellman, 1974
<i>Chiasmocleis atlantica</i> Cruz, Caramaschi and Izecksohn, 1997
<i>Chiasmocleis centralis</i> Bokermann, 1952
<i>Chiasmocleis crucis</i> Caramaschi and Pimenta, 2003
<i>Chiasmocleis devriesi</i> Funk and Cannatella, 2009
<i>Chiasmocleis gnoma</i> Canedo, Dixo and Pombal, 2004
<i>Chiasmocleis sapiranga</i> Cruz, Caramaschi and Napoli, 2007

Tabela 2: Lista dos gêneros atualmente reconhecidos para a família Microhylidae com distribuição para o Novo Mundo, autor e ano de publicação. As espécies presentes no quadro azul foram utilizadas na presente análise, e as espécies no quadro cinza não foram utilizadas. Números entre parênteses representam respectivamente, o número de espécies reconhecidas para o gênero e o número de espécimes utilizados.

Gêneros
<i>Arcovomer</i> Carvalho, 1954 (1/1)
<i>Chiasmocleis</i> Méhely, 1904 (25/ 18)
<i>Ctenophryne</i> Mocquard, 1904 (2/ 1)
<i>Dasypops</i> Miranda-Ribeiro, 1924 (1/1)
<i>Dermatonotus</i> Méhely, 1904 (1/1)
<i>Elachistocleis</i> Parker, 1927 (6/ 1)
<i>Gastrophryne</i> Fitzinger, 1843 (5/ 2)
<i>Hamptophryne</i> Carvalho, 1954 (1/1)
<i>Hyophryne</i> Carvalho, 1954 (1/1)
<i>Hypopachus</i> Keferstein, 1867 (2/ 1)
<i>Myersiella</i> Carvalho, 1954 (1/1)
<i>Nelsonophryne</i> Frost, 1987 (2/ 2)
<i>Relictivomer</i> Carvalho, 1954 (1/1)
<i>Stereocyclops</i> Cope, 1870 (2/ 2)
<i>Synapturanus</i> Carvalho, 1954 (3/ 1)
<i>Syncope</i> Walker, 1973 (3/ 2)
<i>Adelastes</i> Zweifel, 1986 (1)
<i>Altigius</i> Wild, 1995 (1)
<i>Melanophryne</i> Lehr and Trueb, 2007 (2)
<i>Otophryne</i> Boulenger, 1900 (3)

3.2. Levantamento dos caracteres

A análise da morfologia externa e osteológica foi realizada através da comparação direta dos exemplares. Sempre que possível, procurou-se empregar material da série-tipo ou de localidades próximas, no intuito de minimizar possíveis equívocos taxonômicos. Todos os indivíduos tiveram a identificação confirmada previamente, através da literatura corrente e comparação com exemplares das coleções.

Para realização deste trabalho, o material das seguintes coleções foi analisado:

AMNH: American Museum of Natural History, Nova York, NY;

CFBH: UNESP de Rio Claro, Rio Claro, SP;

DZSJRP: UNESP de São Jose do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP;

ICN: Instituto de Ciencias Naturales, Bogotá, DC;

KU - Museum of Natural History, University of Kansas, Lawrence, KS;

MAD: Florida International University – Herpetology Collection, Miami, FL;

MHUA: Museo Herpetologico de la Universidad de Antioquia, Medellín, AN;

MNRJ: Museu Nacional do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ;

MZUFV: Museu de Zoologia “João Moojen” - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG;

MZUSP: Museu de Zoologia da USP, São Paulo, SP;

NMNH: National Museum of Natural History -Smithsonian, Washington, DC;

UFAC: Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC.

Para o levantamento de caracteres externos, foi utilizado o maior número possível de exemplares de localidades distintas (Anexo I) com o intuito de observar o comportamento da variação intra-específica dos caracteres. Para as análises osteológicas, dois indivíduos (um macho e uma fêmea) ou mais foram preparados,

quando possível (Anexo II). Devido ao baixo número de exemplares para as análises osteológicas, a variação intra-específica não pôde ser explorada de maneira mais abrangente. *Chiasmocleis albopunctata* foi a espécie com o maior número de exemplares a ter a osteologia analisada ($N = 5$). Para algumas espécies, como *Chiasmocleis mehelyi* e *Syncope carvalhoi*, não foi possível obter informações osteológicas através da preparação de exemplares e nestes casos dados da literatura foram utilizados para complementar as informações (Walker, 1973; Caramaschi & Cruz, 1997).

A nomenclatura osteológica segue Trueb (1973) e de Sá & Trueb (1991). No caso específico do hióide, foi utilizada a nomenclatura de acordo com Trewavas (1933).

O registro fotográfico dos caracteres foi realizado utilizando câmera digital Nikon Coolpix 995 acoplada ao microscópio estereoscópico de mesma marca. No total foram levantados 116 caracteres, sendo 68 osteológicos e 48 de morfologia externa. Os caracteres foram listados e seus estados estabelecidos de acordo com a variação encontrada para os gêneros analisados. As variações intra-específicas encontradas para algumas espécies foram mencionadas na discussão dos caracteres e de seus estados. A listagem contendo os espécimes analisados encontra-se nos anexos I e II.

3.3.Preparação do Material Osteológico

Para o estudo da osteologia realizado neste trabalho, foi utilizado o método de diafanização. Essa escolha se deve ao tamanho reduzido da maioria dos espécimes, pois o método de diafanização evita o risco de perda ou destruição de pequenos ossos que pode ocorrer durante o processo de preparação a seco. Além disso, a diafanização permite manter, de forma mais precisa, os elementos ósseos e cartilaginosos em sua posição anatômica original, sem deslocamento ou desarticulação. A diafanização tem

como finalidade a coloração das estruturas ósseas e cartilaginosas em vermelho e azul, respectivamente. A listagem contendo os materiais preparados encontra-se no Anexo II.

O protocolo utilizado para aplicação desta técnica foi o proposto por Taylor e Van Dyke (1985) e Song e Parenti (1995), com adaptações pelo protocolo de Springer e Johnson (2000), substituindo-se o Hidróxido de potássio (KOH) por álcool P.A. na fase de coloração dos ossos com vermelho de alizarina. Algumas outras modificações foram feitas no intuito de minimizar o tempo e o custo de preparação, sem perda da qualidade do resultado final. O procedimento é descrito a seguir:

1. Arquivo fotográfico: fotos foram tiradas para arquivar as características da morfologia externa e padrões de coloração dos espécimes diafanizados, viabilizando em estudos futuros a possibilidade de confirmação da identificação do mesmo.
2. Retirada da pele: a pele e as vísceras dos espécimes foram retiradas com o auxílio de bisturis e instrumentos de dissecação e guardadas com seus respectivos números de tombo, para estudos futuros ou necessidade de confirmação da identificação.
3. Lavagem: o exemplar fixado e sem a pele, é submetido a um banho em água corrente durante 24 horas para remoção do excesso de substâncias fixadoras (etanol e formol)
4. Coloração das estruturas cartilaginosas: após a lavagem, o exemplar é mergulhado em uma solução de alcian blue por um ou dois dias. A solução é feita dissolvendo 10 mg de alcian blue 8GN em solução de ácido acético P.A. e etanol P.A. na proporção de 2:8. Quando da preparação de exemplares muito jovens ou embriões, esta proporção deve ser de 4:6. Cabe salientar que o

espécime deve ser checado dia a dia para verificar se suas cartilagens estão coradas. O tempo de permanência nesta solução pode variar de espécime para espécime, porém não é recomendada a permanência por tempo excessivo, visto que o ácido acético é descalcificante, e pode acarretar problemas na sequência da coloração dos ossos e até mesmo desarticulação e destruição do exemplar.

5. Neutralização do ácido e reidratação: coradas as estruturas cartilaginosas, o exemplar é banhado em etanol P.A. por algumas horas para retirada do excesso de corante azul e neutralização do ácido acético.
6. Coloração dos elementos ósseos: nesta etapa, o exemplar é mergulhado em uma solução de etanol P.A. com alizarina (alizarin red S) durante 24 horas ou até que os ossos estejam vermelhos ou púrpuro-avermelhados. A solução de alizarina é feita adicionando-se aos poucos o corante ao etanol, até que esta apresente uma cor púrpura profundo. Em seguida inicia-se o processo de reidratação do espécime, com intervalos de três horas de banhos em soluções de etanol 95%, 70%, 50% e 30%, nessa ordem. Após esse procedimento, mergulha-se o espécime em três banhos de água destilada com intervalos de troca de três horas cada.
7. Digestão do tecido muscular: este processo tem como objetivo a visualização dos elementos esqueléticos que estão cobertos ou envolvidos pela musculatura. Para isso, o exemplar hidratado é imerso em uma solução de enzimas digestivas sob temperatura de 37 a 40 °C durante alguns dias ou semanas, dependendo do tamanho e gordura contidos neste. A cada três ou quatro dias a solução deve ser trocada, para evitar contaminação por fungos e para verificar o andamento do processo, até que todos ossos e cartilagens estejam bem visíveis. A enzima utilizada neste procedimento foi a tripsina. Em exemplares com a musculatura

mais desenvolvida ou em excesso, sugere-se a injeção da solução de tripsina na musculatura para uma ação mais efetiva da enzima. Em alguns casos fez-se necessária a remoção de partes da musculatura para que a enzima pudesse agir de forma mais rápida. A solução de enzima usada neste trabalho foi feita dissolvendo uma colher de sopa de tripsina em uma solução tampão de borato de sódio a 30% (3 partes de solução saturada de borato de sódio + 7 partes de água destilada).

8. Lavagem e neutralização da enzima: o próximo passo é mergulhar o exemplar em um recipiente contendo hidróxido de potássio (KOH) a 0,5% por 5 a 10 minutos, para eliminar a ação da enzima e preparar os ossos para a próxima etapa de coloração. A observação nesta fase é primordial de forma a evitar que o KOH aja sobre as partes cartilaginosas já coradas.
9. Clareamento final e armazenamento: corados os ossos, o exemplar é então lavado em etanol P.A. por 5 a 10 minutos para retirada do excesso de corante alizarina. Em seguida, este é transferido para um recipiente contendo glicerina a 25% que, a cada 24 horas, deverá ser substituída por soluções de glicerina a 50% e 75 %, respectivamente. Após a última solução, o exemplar é colocado em glicerina 100% com uma pequena quantidade de timol e armazenado. A glicerina auxilia na clarificação de alguns tecidos e o timol evita a contaminação e proliferação de fungos.

O passo de número seis (etapas de coloração das estruturas ósseas), em alguns casos foi executado após os passos sete e oito (etapas de digestão da musculatura e retirada do excesso de enzima).

3.4. Análise Filogenética

O método utilizado para determinar as relações filogenéticas do gênero *Chiasmocleis* foi o cladista (Hennig, 1966; Nelson & Platnick, 1981; Wiley, 1981; Rieppel, 1988) e os dados foram analisados seguindo o princípio da parcimônia (Kluge & Farris, 1969; Farris, 1970). O mesmo peso foi atribuído a todos os caracteres (Grant & Kluge, 2003) e nenhum dos caracteres multi-estado foi considerado como aditivo. Nos casos em que um determinado caráter não era conhecido ou era inaplicável para um determinado táxon, o estado foi codificado com uma interrogação (?) (Maddison, 1993; Barriel & Tassy, 1993).

Os caracteres sexuais ou dimórficos foram codificados independentemente para machos e fêmeas, de acordo com Gilbert *et al.* (2009). Os caracteres sexuais codificados separadamente para machos e fêmeas permitem que ambos os estados únicos dos caracteres para machos e fêmeas sejam filogeneticamente informativos, aumentando a precisão do sinal filogenético.

Os caracteres que apresentavam mais de um estado de um determinado caráter em um mesmo táxon terminal, definido como caráter polimórfico, foram inseridos diretamente na matriz. Segundo método descrito em Campbell & Frost (1993), em alguns casos a presença do próprio polimorfismo, quando observado de forma consistente em um conjunto de espécies, foi tratado como um estado de caráter filogeneticamente informativo. Este método foi aplicado nos caracteres (39, 41, 42, 43 e 44) relacionados a presença de linhas corporais, que apresentam um alto grau de polimorfismo.

Os caracteres levantados foram codificados em uma matriz, utilizando o programa Mesquite 2.5 (Maddison & Maddison, 2008) (Anexo IV). A matriz foi analisada através

do programa TNT 1.1 (Goloboff *et al.*, 2008), empregando-se a busca tradicional heurística, com 500 adições aleatórias de terminais, guardando 15 árvores por réplica na memória e em seguida submetendo-as a recombinações de ramos (TBR, *tree bisection reconnection*) para busca das árvores mais parcimoniosas. Os ramos foram colapsados quando o comprimento mínimo era igual a zero.

3.5. Análise do Padrão de Distribuição do Gênero *Chiasmocleis*

Os dados obtidos nas coleções foram empregados conjuntamente com as informações bibliográficas disponíveis (Caramaschi & Cruz, 1997; De La Riva *et al.*, 2000; Lescure & Marty, 2000; Brasileiro *et al.*, 2005; Gordo & Campos 2003; Duellman, 2005; Uetanabaro *et al.*, 2007; Frost 2010; 1997; Moravec & Kohler, 2007; Schulze *et al.*, 2009) para a confecção dos mapas de distribuição das espécies de *Chiasmocleis*. Os mapas foram utilizados para detectar padrões de distribuição das espécies, as principais áreas de simpatria, riqueza e fisionomias de ocorrência das espécies. Apenas *Chiasmocleis avilapiresae*, *C. superciliarbus* e *C. devriesi* não foram incluídos nesta análise, pois foram publicadas após o término da coleta de dados. Para a confecção dos mapas cada registro foi confirmado com a identificação de ao menos um exemplar anexo III.

A partir dos dados da literatura e dos levantamentos das coleções herpetológicas, as coordenadas das localidades foram confirmadas em gazetteers de localidades. Todas as coordenadas foram conferidas no Google Earth. Os mapas foram produzidos com o auxílio do programa ArcView Gis 3.1 e editados no Adobe Photoshop 7.0.

4. Resultados

4.1. Padrão de Distribuição do Gênero *Chiasmocleis*

Dentre as espécies de microhilídeos da América do Sul, a grande maioria está distribuída ao leste dos Andes, enquanto que apenas cinco gêneros são de ocorrência transandina, ou seja, a oeste dos Andes. Os gêneros da família Microhylidae com distribuição transandina são: *Elachistocleis*, *Relictivomer*, *Nelsonophryne*, *Ctenophryne* e *Chiasmocleis*. Apenas duas espécies são conhecidas para as florestas baixas da costa do Pacífico, *Ctenophryne minor* e *Nelsonophryne aterrima* (Zweifel & Myers, 1989).

As espécies de *Chiasmocleis* podem ser agrupadas em quatro conjuntos biogeograficamente distintos, visualizados na Figura 6. A única espécie presente a oeste dos Andes, *C. panamensis*, constitui o primeiro grupo, biogeograficamente isolado das demais espécies do gênero, todas cisandinas. O segundo grupo compreende sete espécies com distribuição restrita à Floresta Amazônia (*C. ventrimaculata*, *C. bassleri*, *C. hudsoni*, *C. jimi*, *C. magnova*, *C. anatipes*, *C. shudikarensis*, *C. avilapirese*, *C. supersilialbus*, *C. devriesi*). O terceiro grupo é composto por *C. centralis*, *C. mehelyi* e *C. albopunctata*, que ocorrem nas áreas de vegetação aberta da América do Sul. As duas primeiras espécies são endêmicas do Cerrado brasileiro, enquanto que a terceira ocorre no Chaco, no Cerrado e em áreas de transição entre esses dois biomas e as Florestas Amazônica e Atlântica. O último conjunto biogeográfico abrange 11 espécies (*C. leucosticta*, *C. carvalhoi*, *C. atlantica*, *C. mantiqueira*, *C. schubarti*, *C. gnoma*, *C. cordeiroi*, *C. crucis*, *C. sapiranga*, *C. capixaba*, *C. alagoanus*) que se distribuem pelas florestas do Bioma atlântico, do extremo sul ao nordeste do Brasil. Neste bioma, podemos apontar a região do Sul da Bahia como sendo de elevada riqueza de espécies,

com o registro de até seis espécies em uma área *Chiasmocleis carvalhoi*, *C. schubarti*, *C. gnoma*, *C. cordeiroi*, *C. crucis*, *C. sapiranga*, *C. capixaba* ocorrem nesta região.

Áreas de simpatria foram identificadas em três dos quatro conjuntos biogeográficos. A Floresta Atlântica apresentou sete grupos de espécies simpátricas. A Floresta Amazônica apresentou seis grupos, e as vegetações abertas da América do Sul apenas dois. As espécies simpátricas podem ser visualizadas na tabela 3 e nas Figuras 7, 8 e 9. Dentre os grupos de simpatria, a Floresta Amazônica apresentou o maior número de espécies simpátricas (quatro espécies): *C. bassleri*, *C. ventrimaculata*, *C. anatis*, *C. magnova*. A Floresta Atlântica apresentou três espécies e as vegetações abertas da América do Sul, duas espécies. É provável que outras áreas de simpatria ainda sejam identificadas.

Algumas espécies tiveram sua distribuição ampliada. A que apresentou maior importância foi *Chiasmocleis mantiqueira*, *C. cordeiroi*, *C. albopunctata*. *Chiasmocleis mantiqueira* antes endêmica da Serra do Brigadeiro, no estado de Minas Gerais, teve sua área de ocorrência ampliada após registros de duas populações no estado de São Paulo: uma em Campos de Jordão e outra na Serra da Bocaina. *Chiasmocleis cordeiroi* era conhecido apenas por machos da série tipo, provenientes de Camamu, no Sul do estado da Bahia. Registros de fêmeas e machos foram obtidos no município de Ilhéus, ampliando sua distribuição em aproximadamente 95 quilômetros ao Sul da localidade-tipo (Figura 8). Embora *Chiasmocleis albopunctata* seja a espécie com distribuição mais ampla, o estudo de exemplares das coleções resultaram em novos registros para os estados da Bahia, Maranhão, Tocantins e Pará (Figura 9).

Tabela 3- Espécies simpátricas do gênero *Chiasmocleis*

<i>C. albopunctata</i> – <i>C. centralis</i>
<i>C. albopunctata</i> – <i>C. mehelyi</i>
<i>C. leucosticta</i> – <i>C. carvalhoi</i>
<i>C. carvalhoi</i> – <i>C. atlantica</i>
<i>C. schubarti</i> – <i>C. capixaba</i>
<i>C. schubarti</i> – <i>C. capixaba</i> – <i>C. carvalhoi</i>
<i>C. schubarti</i> – <i>C. carvalhoi</i> – <i>C. gnoma</i>
<i>C. schubarti</i> – <i>C. crucis</i> – <i>C. cordeiroi</i>
<i>C. crucis</i> – <i>C. cordeiroi</i>
<i>C. shudikarensis</i> – <i>C. hudsoni</i>
<i>C. shudikarensis</i> – <i>C. bassleri</i>
<i>C. bassleri</i> – <i>C. hudsoni</i>
<i>C. bassleri</i> – <i>C. ventrimaculata</i>
<i>C. bassleri</i> – <i>C. ventrimaculata</i> – <i>C. anatipes</i>
<i>C. bassleri</i> – <i>C. ventrimaculata</i> – <i>C. anatipes</i> – <i>C. magnova</i>

4.2.Descrição da osteologia de *Chiasmocleis albopunctata*

Crânio

O crânio de *Chiasmocleis albopunctata* é achatado dorso-ventralmente, com o focinho arredondado. Apresenta crânio levemente mais longo que largo, tendo a região do anulus timpânico como o ponto lateral mais distal. De forma geral, representa um crânio bem ossificado, com algumas estruturas e fusões cartilaginosas e ou mineralizadas. Na figura 10 estão ilustrados os crânios de *Chiasmocleis albopunctata* e *C. hudsoni*.

Ossos endocondrais

Esfenetmóide: ossos desenvolvidos, pareados não havendo contato entre si, sendo a região postero-medial o ponto mais próximo entre si. Sobrepostos parcialmente e em contato como os nasais na porção anterior. Na porção posterior são sobrepostos pelos frontoparietais. Formam a parede anterolateral do neurocrânio. Visíveis em vista dorsal no início da região anterolateral da órbita (*planum antorbitale*) e entre o nasal e frontoparietal. Em vista ventral, as margens mediais são sobrepostas pelo processo cultriforme do paraesfenóide, o qual se sobrepõe até sua porção medial. Projeta-se anteriormente formando a borda posterior das coanas. Lateralmente se projeta em direção ao *planum antorbitale*. Ocupa a região do palatino e vômer posterior. Posteriormente não se articulam com o pró-ótico, terminando no terço anterior da órbita.

Exoccipital e Proótico: ossos fusionados, sendo possível distinguir exoccipital e pró-ótico devido a uma cartilagem mineralizada que se conecta com a crista parótica. Crista parótica não ossificada, levemente calcificada. Eminências epióticas visíveis. O proótico forma a parede postero-lateral do neurocrânio e margem posterior do forâmen ótico, sua extremidade anterior atinge a região medial da órbita. Em vista ventral, a margem medial do pró-ótico é levemente sobreposta pelo processo cultriforme do paraesfenóide e a porção posterior sobreposta pela ala do paraesfenóide. Em vista dorsal, a porção antero-medial é sobreposta pelos frontoparietais. Os exoccipitais formam a parede medial da cápsula ótica, às margens do forâmen magno e formam os côndilos occipitais. Forâmen magno é largo e os côndilos occipitais são arredondados e bem separados entre si. Margem anterior do exoccipital é dorsalmente sobreposta pelos frontoparietais e ventralmente sobreposta pela porção posterior das alas e processo

médio-posterior do paraesfenóide. As regiões ventrais e dorsais das duas partes dos exoccipitais estão separadas por uma porção cartilaginosa.

Aparato plectral: ossos dérmicos e cartilagens pareados que formam o aparelho auditivo. Columela ou *pars media plectri* cilíndrica em sua parte medial e achatada na porção distal onde se expande e dobra-se ventralmente formando a extra-columela ou *pars externa plectri*, que é cartilaginosa. A extremidade proximal também se expande e articula com o opérculo bem desenvolvido e intensamente calcificado que ocupa a *fenestra ovalis*. A extra-columela é circundada pelo *anulus* cartilaginoso, em forma um anel completo.

Exocrânio

Nasal: Ossos pareados expandidos e bem ossificados. Cobrem quase completamente a cápsula nasal. Não se articulam entre si nem com os frontoparietais ou maxila, mas articulam postero-ventralmente com os esfenetmóides. Possuem uma expansão lateral orientada ventralmente, mas esta não se articula com a maxila. Não formam a margem anterior da órbita. A margem anterior do nasal é curva, ligeiramente côncava. Entre os nasais apresenta um robusto septo nasal cartilaginoso, que termina anteriormente com um processo prenasal medial e dois laterais.

Frontoparietal: ossos pareados, largos, com forma abaulada e separados entre si por toda sua extensão. Ossos bem ossificados, não apresentam fenestras, deixando a fontanele totalmente coberta. Anteriormente não se articula com os nasais, mas se articula anteroventralmente com os esfenetmóides, cobrindo sua maior parte. Posteriormente sobrepõem à região do pró-ótico e sua porção mais posterior com o

exoccipital, chegando próximo ao forâmen magno. Não apresenta projeção para o foramen magno, nem projeções supraorbitais.

Pré-maxila: ossos pareados, estreitamente separados entre si não havendo leve sobreposição da maxila. Não se articula com nenhum dos ossos adjacentes. Ausência de dentes na *Pars dentalis*. Processo alar bem desenvolvido, levemente inclinado para frente, curvado lateralmente nas pontas cartilaginosas. *Pars palatina* desenvolvida e indentada, com processo palatino medial levemente menor que os processos laterais.

Maxila: ossos pareados, sobrepondo levemente a pré-maxila em sua porção inicial. Não se articula com o quadradojugal posteriormente, se estendendo até o terço inicial do pterigóide. Medialmente se conecta com o ramo anterior do pterigóide por uma camada cartilaginosa. Não possui processos pré ou pós-orbital. A *pars facialis* não tem a mesma altura em sua extensão, sendo mais elevada anteriormente, e afilando posteriormente a partir da cartilagem do planum anterorbitales (altura do nasal). *Pars palatina* desenvolvida na região anterior, afilando-se medialmente e ausente na porção posterior.

Quadradojugal: ossos pareados e curtos, não se articulam com a maxila. Com a extremidade anterior afilada e posterior (base) larga. Articula posteriormente com o ramo ventral do esquamosal e com o palatoquadrado cartilaginoso.

Paraesfenóide: osso único, sem odontóides ou ornamentações. Processo cultriforme largo, retangular com margem anterior irregular. Em vista ventral, o processo cultriforme sobrepõe os esfenetmóides na porção posterior e médio-ventral. As

alas são de largura semelhante à extremidade do processo cultriforme e orientadas postero-lateralmente, sobrepondo o exoccipital e pró-ótico, em vista ventral. O processo postero-medial é proeminente e truncado, atingindo o forâmen magno.

Vômer: osso único, reconhecido por alguns autores como vômer anterior, ausência de vômer posterior. Não possui ornamentações (odontóides). Não se articula com nenhum osso, delimita a porção anterior a coana, estando imerso na mucosa bucal. Tem forma triangular com corpo mais robusto e as três projeções afiladas.

Suspensorium

Pterigóide: ossos pareados, trirradiados e bem desenvolvidos. Ramo medial menor que os outros dois ramos, muito reduzido em comprimento e possui articulação cartilaginosa com a cápsula ótica e a ala do paraesfenóide. Ele é largo e recobre o processo pseudobasal do palatoquadrado. Ramo anterior longo e largo, se estende ao longo da pars palatina da maxila dorsalmente, alcança a margem anterior da órbita. Ramo posterior menor do que o anterior, porém largo e recobre parte do palatoquadrado cartilaginoso.

Esquamosal: ossos pareados e trirradiados em forma de “T”, com o ramo ventral mais desenvolvido. Os ramos zigomático e ótico moderadamente desenvolvidos e aproximadamente de mesmo tamanho. Em vista dorsal se projetam ântero-dorsalmente em linha. Ramo ótico recobre a extremidade ântero-lateral da crista parótica cartilaginosa. Ramo ventral se projetado ventralmente com uma leve inclinação na direção posterior, fazendo um ângulo com o arco maxilar de aproximadamente entre 45° e 90°. Extremidade posterior do ramo ventral se sobrepõe à porção lateral do

palatoquadrado cartilaginoso e se articula a extremidade posterior do quadradojugal. As porções distais do ramo ventral do esquamosal e ramo posterior do pterigóide embora estejam próximas, não se articulam, devido a presença do palatoquadrado entre estes dois ossos.

Palatoquadrado: pars articularis cartilaginosa. Articula com a extremidade posterior do quadradojugal, a superfície interna é revestida pelo ramo posterior do pterigóide e a externa pelo ramo ventral do esquamosal.

Esqueleto Hiobranquial: Sinus hioglossal em forma de “V”, sem membrana hioglossal. Centro do prato levemente calcificado, com formação de um processo anterior discreto. Processos ântero-laterais largos e arredondados sem projeções. Processos pósterio-laterais estreitos e curtos. Processos pósterio-mediais ossificados, com expansão distal. As duas peças do processo pósterio-medial, são conectadas medialmente por uma peça cartilaginosa com processo posterior desenvolvido. Laringe com cartilagens aritenóides não articuladas entre si. Anel cricóide completo e processo esofageal desenvolvido.

Pós-crânio

Coluna vertebral: possui oito vértebras pré-sacrais, sendo as sete primeiras (I-VII) procelas, com centrum holocordal côncavos anteriormente e convexas posteriormente e a oitava vértebra pré-sacral (VIII) bicôncava, caracterizando uma coluna vertebral do tipo displasiocélica. O arranjo da vértebra cervical é cotilar do tipo I, com os cótilos laterais separados. Os arcos neurais não imbricados, com ausência de espinhos neurais dorsais. Todas as pré-sacrais são aproximadamente de mesmo

tamanho, levemente mais largas que longas, com uma exceção na vértebra II que apresenta aproximadamente metade do comprimento das demais. O processo transversal das pré-sacrais apresentam morfologia e orientação diferenciados, as pré-sacrais II-IV tem processos robustos e longos, as pré-sacrais V-VIII tem processos menores, e mais finos, com aproximadamente metade do diâmetro dos processos II-IV. O processo transversal da III pré-sacral apresenta, na região medial, uma projeção anterodorsal. O processo transversal da IV pré-sacral pode apresentar expansão na região distal. A orientação dos processos transversos das vértebras III, V e da sacral são perpendiculares em relação ao eixo da coluna da vértebra II, levemente inclinada anteriormente, das vértebras VI-VIII fortemente inclinadas anteriormente e a IV inclinada posteriormente. Em um exemplar de *C. albopunctata* MZUSP-98907 o processo transversal é levemente orientado anteriormente. Vértebra sacral com diapófises expandidas assimétricas, com a metade posterior maior que a anterior. A porção distal de cada diapófise apresenta cartilagem sesamóide desenvolvida e mineralizada, se articulando com o ílio. Uróstilo cilíndrico e articulação bicondilar com a vértebra sacral. O uróstilo pode apresentar uma pequena fissura na região dorsal (ausente no MZUSP 98907).

Cintura escapular: cintura do tipo firmisterna, composta por coracóide, procoracóide e clavícula, epicoracóide reduzido e ausência de elemento pré-zonal. O esterno consiste de um prato cartilaginoso e assimétrico, sendo mais expandido na porção distal que a porção proximal. A mineralização presente no esterno é variável, sendo mais freqüente e mais intensa na porção proximal, na região de contato com o coracóide. O epicoracóide restrito a porção entre os coracóides, está em contato direto com o esterno e procoracóide. O par de procoracóides cartilaginosos (pode apresentar poucos pontos mineralizados) é moderadamente desenvolvido projetando-se do

epicoracóide até a porção medial distal do coracóide, adquirindo uma forma de arco. As clavículas são estruturas ósseas, reduzidas e retas, sustentadas pelo procoracóide. Distantes entre si, as clavículas se articulam juntamente com o procoracóide na porção distal do coracóide. Os coracóides são ossos robustos, ligeiramente separados na porção medial pela cartilagem epicoracóide e fusionados lateralmente à escapula. A extremidade medial do coracóide é aproximadamente duas vezes maior do que a extremidade lateral.

Membros anteriores: Assim como a maioria dos anuros, *Chiasmocleis albopunctata* apresenta a formula básica para as falanges da mão, composta por 2-2-3-3, com a ordem de tamanho dos dedos igual a $III < IV < II < I$. A última falange apresenta extremidade arredondada, não bilobada. Os elementos carpais proximais são compostos pela *Ulnare* e *intermedium* fusionados e o *radiale*. Os elementos carpais distais 3, 4 e 5 estão fusionados formando um elemento único abaixo dos metacarpais V, IV e III, ao lado deste se encontra o pequeno carpal distal 2. O prepólex é formado por dois elementos, proximal e distal afilado. O elemento Y está localizado na região posterior do prepólex e do carpal 2, e anterior ao *radiale*. A ulna e rádio são fusionados de maneira indistinta, e é possível distinguí-los apenas na região distal.

Membros posteriores: tíbia e fêmur de tamanhos similares. *Tibiale* e *fibulare* alongados, bem separados medialmente, mas fusionados distalmente e proximalmente. Os artelhos têm o seguinte arranjo de falanges: 2-2-3-4-3. Tamanho relativo dos artelhos: $I < II < V < III < IV$. Na base do Pré-halux triplo, se encontra o elemento tarsal 1, na base do metarsal II se encontra o elemento tarsal 2, e ao lado deste o elemento tarsal 3 com formato alongado.

4.3. Dimorfismo Sexual no gênero *Chiasmocleis*

Uma característica marcante da morfologia do gênero é o seu dimorfismo sexual. Esse dimorfismo acentuado já causou confusões na história taxonômica do gênero, como a que envolveu *Engystoma leucostictum* e *Nectodactylus spinulosus*, descritos a partir de um macho e de uma fêmea da mesma espécie. Miranda-Ribeiro (1924) empregou um exemplar macho na descrição do gênero e espécie de *Nectodactylus spinulosus*, distinguindo-o de *Engystoma leucostictum*, espécie descrita com base em um exemplar fêmea, pela presença de espinhos e membrana interdigital acentuados. Carvalho (1954) esclareceu o fato sinonimizando *Nectodactylus spinulosus* com *Engystoma leucostictum*.

Os principais caracteres considerados expressivos no dimorfismo sexual são:

Presença de saco vocal nos machos: este é um caráter de diferenciação sexual aplicado a quase todas as famílias de anuros.

Região gular enegrecida: os machos apresentam a região gular negra ou notadamente escurecida (Figuras 11). Este caráter sexual ocorre em todas as espécies do gênero, com exceção de *C. jimi*, *C. hudsoni* e *C. mantiqueira*. Nas espécies *C. magnova*, *C. anatipes* não foi possível verificar a presença ou ausência deste caráter.

Espinhas dérmicas: os machos apresentam espinhos em maior número e em diferentes regiões do corpo (ver detalhes nas descrições dos caracteres morfológicos). As fêmeas, na maioria das espécies, apresentam espinhos de menor tamanho e somente na região femoral, ao redor da cloaca, com exceção das espécies *C. mantiqueira*, *C. schubarti* e *C. avilapiresae*, nas quais as fêmeas apresentam espinhos na região dorsal. Dentre estas três espécies, *C. mantiqueira* é a espécie que apresenta maior número de espinhos nas fêmeas.

Membranas interdigitais mais desenvolvidas nos machos das espécies que apresentam tal caráter (ver detalhes nas descrições dos caracteres morfológicos): em geral, esta estrutura é menos desenvolvida nas fêmeas, como pode ser visualizado na Figura 12. O menor tamanho da membrana nas fêmeas cria um problema de cunho taxonômico para o grupo, pois a diagnose de algumas espécies se baseia neste caráter, tornando a identificação das fêmeas mais difícil.

4.4. Apresentação dos caracteres filogenéticos

O estudo de estruturas visualizadas externamente e osteológicas resultou em 116 caracteres variáveis inter-especificamente nos gêneros analisados. Esses caracteres serão discutidos na variação existente entre as espécies do gênero *Chiasmocleis* e demais gêneros com ocorrência nas Américas. Os caracteres foram separados em complexos morfológicos e seguem a ordem em que se encontram na matriz de caracteres (1 a 116), com seus respectivos estados (anexo IV).

4.4.1. Caracteres Externos

Membranas Interdigitais

A família Microhylidae apresenta uma extensa variação do grau de desenvolvimento da membrana interdigital. Algumas espécies são desprovidas por completo deste tipo de caráter. Entretanto, outras espécies possuem as patas completamente palmadas, com membranas tão extensas que vão da base à ponta dos dígitos (Parker, 1934; Bokermann, 1952; Zweifel, 1986; Cruz *et al.*, 1997). As membranas interdigitais também podem ser consideradas um caráter na diferenciação sexual, como nos gêneros *Ctenophryne*, *Chiasmocleis*, *Kaloula*. Em geral, os machos

apresentam membranas mais desenvolvidas que as fêmeas (Parker, 1934; Zweifel & Myers, 1989) (Figura 12).

1. Membranas interdigitais nos artelhos de machos adultos: (0) ausente; (1) presente e basal; (2) presente e desenvolvida.

Dentro do gênero *Chiasmocleis*, a presença e a extensão da membrana digital têm sido um componente importante para o estabelecimento de unidades taxonômicas (Walker & Duellman, 1974; Cruz *et al.* 1997; Caramaschi & Pimenta, 2003). Atualmente o único agrupamento para o gênero, restrito às espécies da Floresta Atlântica, se baseia exclusivamente no grau de desenvolvimento das membranas interdigitais, formando dois grupos morfologicamente distintos. O primeiro grupo, com seis espécies, é caracterizado por apresentar artelhos com membranas desenvolvidas; o segundo grupo, com cinco espécies, apresenta ausência ou desenvolvimento apenas basal das membranas interdigitais nos artelhos.

Dentre as espécies analisadas, foram identificados três estados em relação aos estágios de desenvolvimento das membranas interdigitais. O estado zero consiste nas espécies com ausência de membranas interdigitais nos artelhos (Figura 14 A). O estado 1 representa as espécies com membranas basais (Figura 14 B). A definição adotada aqui para este estado é referente à relação da membrana e altura dos tubérculos articulares (Savage & Heyer, 1997). As espécies que apresentam membrana basal são caracterizadas por esta membrana não exceder o primeiro tubérculo subarticular do IV artelho, e/ou apresentar rudimento de membrana entre os artelhos I e II. As espécies com extensas membranas (estado 2), apresentam membranas entre todos os artelhos e acima do primeiro tubérculo subarticular do IV artelho (Figura 14 C e D). Os diferentes níveis de desenvolvimento das membranas podem ser visualizados na Figura 14.

- 2. Membranas interdigitais nos artelhos de fêmeas adultas:** (0) ausente; (1) presente basal; (2) presente e desenvolvida.

A definição dos estados deste caráter segue o mesmo apresentado no caráter anterior. Em muitas espécies analisadas as membranas das fêmeas apresentam um desenvolvimento diferente dos machos, sendo necessário a utilização de dois caracteres para esta estrutura. Apenas três espécies, *Chiasmocleis mantiqueira*, *Ctenophryne geayi*, *Hypopachus variolosus*, apresentaram o terceiro estado deste caráter (membranas desenvolvidas), recebendo a mesma codificação que os machos da mesma espécie.

- 3. Membrana interdigital nos dedos de machos adultos:** (0) ausente; (1) presente.

Diferentemente da membrana entre os artelhos, a presença de membranas entre os dedos está restrita apenas aos machos de duas espécies, *Chiasmocleis leucosticta* e *C. mantiqueira*. As demais espécies são completamente desprovidas de tal estrutura. Variações intra-específicas foram registradas, onde machos podem apresentar membranas mais extensas, ficando com as patas dianteiras completamente palmadas (Figura 13).

- 4. Membrana interdigital nos dedos de fêmeas adultas:** (0) ausente; (1) presente.

A presença de patas dianteiras palmadas, ou seja, que apresentem membranas entre os dígitos está restrita a duas espécies *Chiasmocleis leucosticta* e *C. mantiqueira*.

- 5. Fímbria nos dedos:** (0) ausente; (1) presente.

Dentro dos gêneros analisados o tamanho destas dobras apresenta variações intra e interespecíficas, sendo encontrado espécies com fímbrias pouco desenvolvidas (Figura

15) e outras com extensas fimbrias, como ilustrado na figura 13b. A presença de dobras dérmicas nos dedos pode não ser evidente em alguns exemplares e também depende da qualidade de sua preservação. Devido a estes fatores, apenas dois estados (presença e ausência) para este caráter serão empregados na análise filogenética.

6. Fímbria nos artelhos: (0) ausente; (1) presente.

Dígitos

7. Relação entre o comprimento dos dedos II e IV: (0) dedo II menor que o dedo IV;
(1) dedo II maior que o dedo IV.

A relação de tamanho dos dígitos tem demonstrado importância filogenética, em especial para a família Leptodactylidae (Lynch, 1971). Wu (1994) utiliza a relação de comprimento entre os dedos II e IV como caráter em seu caráter 13. Os mesmos estados identificados por Wu (1994) foram empregados. O primeiro estado consiste no dedo IV sendo maior que o dedo II, obtendo a seguinte ordem de tamanho I-II-IV-III (fórmula 1). O segundo estado refere-se à ordem I-IV-II-III (fórmula 2), no qual o dedo II é maior que o dedo IV. É interessante ressaltar que as espécies do gênero *Chiasmocleis* de ocorrência nos biomas florestais amazônico e atlântico apresentam a mesma relação de comprimento entre os dígitos, sendo ela a fórmula 1 (estado 0), enquanto que as espécies que ocorrem em áreas de vegetação aberta da América do Sul e *C. magnova* apresentam a fórmula 2 (estado 1). Wu (1994) apresenta outro caráter relacionando o tamanho do primeiro dedo com o segundo. Tal variação não foi encontrada no material analisado, onde todos apresentam o dedo I menor que o II.

8. Comprimento do dedo IV: (0) ponta do dedo IV excede o 1º tubérculo subarticular do dedo III; (1) ponta do dedo IV não excede o 1º tubérculo subarticular do dedo III.

Variações no comprimento dos dígitos são comuns entre diferentes espécies e gêneros. Dentre os gêneros analisados, o IV dígito foi o que apresentou maior variação, podendo ser pequeno não ultrapassando o nível do 1º tubérculo subarticular do dedo III (estado 1); ou ser desenvolvido e ultrapassar o 1º tubérculo subarticular do dedo III (Figuras 13 e 15). Embora não tenha sido codificado, foi observado diferenças dentro do estado zero deste caráter, devido a dificuldade do estabelecimento de um novo estado, preferiu-se manter apenas dois estados.

9. Dedo I reduzido: (0) dedo I abaixo da altura do 1º tubérculo subarticular do dedo II; (1) dedo I na altura do 1º tubérculo subarticular do dedo II; (2) dedo I maior que a altura do 1º tubérculo subarticular do dedo II.

A redução do primeiro dígito ocorre claramente em algumas espécies do gênero *Chiasmocleis* e *Syncope*. No gênero *Syncope* a dedo I não se encontra visível externamente em algumas espécies, assim como o primeiro artelho, apresentando maior redução entre todos os gêneros americanos (Figura 15). Já *Chiasmocleis magnova*, além de compartilhar com *Syncope* a redução do seu tamanho, apresenta reduções nos dígitos mais similares a *Syncope* que as demais espécies de *Chiasmocleis* (Figura 15). *Chiasmocleis jimi*, *C. hudsoni* e *C. bassleri* de certo modo apresentam características intermediárias (redução menos acentuada) entre as demais espécies de *Chiasmocleis* e *Syncope*. As demais espécies do gênero *Chiasmocleis* não apresentam redução acentuada no I dígito (Figura 13b). Os gêneros *Nelsonophryne*, *Hamptophryne*, *Hypopachus* e *Dermatonotus* apresentam o I dedo mais delgado acima do primeiro tubérculo subarticular do dedo II.

10. Comprimento dos artelhos II e V: (0) artelho V maior que o II; (1) artelho II maior que o V.

A relação entre o comprimento dos artelhos apresenta dois estados como o caráter 4. Este caráter também é encontrado na matriz de Wu (1994), em seu caráter 10. O estado (0) apresenta o artelho V notadamente maior que o II (Figura 14 A). O segundo estado apresenta o inverso, sendo o artelho II maior que o V. A fórmula do comprimento dos artelhos para o primeiro estado é I-II-V-III-IV e para o segundo, I-V-II-III-IV (Figura 14 B-D).

11. Alargamento do dedo III nos machos: (0) largura do dedo III equivalente aos demais; (1) Dedo III claramente mais espesso que os demais.

O alargamento do dedo III é considerado um caráter na diferenciação sexual de algumas espécies, como observados na família Dendrobatidae (Duellman & Trueb, 1986; Grant *et al.*, 2006). O alargamento do dedo III está presente só nos machos de algumas espécies de *Chiasmocleis*, *Arcovomer passarelli* e *Hypopachus variolosus*. É provável que tal modificação esteja relacionada com a reprodução, favorecendo a adesão do macho sobre a fêmea.

12. Número de tubérculos do dedo IV: (0) dois tubérculos subarticulares no dedo IV; (1) um tubérculo subarticular no dedo IV; (2) ausência de tubérculo.

A presença de apenas um tubérculo ou sua ausência, não demonstrou correlação com o caráter 8, relacionado ao comprimento do dedo IV. Os gêneros *Dermatonotus*, *Dasylops* e *Myersiela*, *Synapturanus* não apresentam redução do dedo IV e apresentam apenas um tubérculo ou nenhum.

13. Número de tubérculos subarticulares no artelho V: (0) ausência de tubérculo; (1) um tubérculo; (2) dois tubérculos.

A maioria das espécies analisadas apresenta dois tubérculos subarticulares no artelho V. *Synapturanus mirandaribeiroi*, *Syncope*, *Chiasmocleis magnova* não possuem tubérculos nos pés. *Nelsonophryne aterrima* não possui tubérculos apenas no artelho V, a espécie *Nelsonophryne aequatorialis* pode ou não ter um tubérculo no V areyelho.

14. Condição do tubérculo palmar: (0) inteiro; (1) dividido.

Corresponde ao caráter 14 de Wu (1994). A divisão do tubérculo nem sempre é clara, e vai desde uma bifurcação à divisão completa.

15. Tubérculo metatarsal externo: (0) ausente; (1) presente; (2) desenvolvido.

A maioria dos gêneros americanos não apresenta o tubérculo metatarsal externo localizado abaixo do V artelho, apenas *Hypopachus variolosus* e *Gastrophryne usta* que apresentam tal estrutura. Porém para gêneros não americanos este tubérculo é mais comum, sendo encontrado na subfamília Microhylinae. Além da presença e ausência, este tubérculo pode se apresentar de maneira discreta ou bem desenvolvida como em *Hypopachus*. O tubérculo metatarsal externo desenvolvido é associado à hábitos secretivos e tal estrutura teria a função de auxiliar nos movimentos do ambiente fossorial.

16. Tubérculo metatarsal interno: (0) simples e achatado; (1) desenvolvido.

O tubérculo metatarsal interno está localizado na base do I artelho. Esse tubérculo pode ser pequeno e pouco evidente, como em *Myersiella* e na maioria das espécies de

Chiasmocleis. Os gêneros *Hypopachus*, *Stereocyclops*, *Hyophryne* e *Ctenophryne* apresentam esse tubérculo desenvolvido, sendo de tamanho levemente menor que o artelho I. Nos demais gêneros o tubérculo se apresenta pouco desenvolvido e de tamanho notadamente menor. Embora não tenha sido codificado, existem variações na altura deste tubérculo, sendo mais elevado em algumas espécies ou mais achatado em outras.

17. Ponta dos artelhos: (0) não expandida; (1) expandida, sendo maior que a largura da base da última falange; (2) afilada.

A variação morfológica da região apical dos dígitos vem sendo utilizada como um caráter taxonômico e filogenético para várias famílias de anuros (Lynch 1971; Zweifel, 1986). Expansões digitais estão aparentemente correlacionadas a hábitos arborícolas, embora diversas espécies de hábitos terrestres tenham expansões nos artelhos e dedos (Lynch, 1971).

Dentre as espécies analisadas, três estados foram encontrados, sendo definidos como: pontas dos artelhos notadamente dilatadas (Figura 12 e 14 C), pontas dos artelhos pequenas e arredondadas (Figuras 14 A), e pontas dos artelhos afiladas (Figura 15). Expansões digitais mais desenvolvidas são encontradas em outras subfamílias de microhilídeos como *Asterophrynae*, *Cophylinae* e *Microhylinae*. O número de dígitos que apresentam dilatações pode variar entre as espécies. Em geral o artelho IV é o que apresenta a expansão mais marcada. Apesar de terem sido estabelecidos apenas dois estados para este caráter, outras características estão presentes nas pontas dos dígitos, tais como as pontas dos dígitos achatadas, como encontrado nas espécies do gênero *Syncope* e em *Chiasmocleis jimi* e *C. hudsoni*; ou pontas globosas como em

Hamptophryne boliviana. Devido a alteração deste caráter em decorrência do estado de conservação e método de fixação, optou-se por não incluir esses estados.

18. Formato da ponta dos dedos: (0) não expandida; (1) expandida; (2) achatada.

Dentre os microhilídeos americanos a forma mais comum é pontas dos dedos não expandidas. As espécies *Syncope antenore*, *S. carvalhoi*, e *Chiasmocleis magnova* apresentam o estado menos comum com um leve achatamento. O padrão com pontas expandidas, apesar de ser pouco representativo nos gêneros americanos, é comum em outras subfamílias.

Espinhos dérmicos

A presença de espinhos dérmicos é comum em muitas espécies de microhilídeos (Parker, 1934; Nelson, 1972; Zweifel, 1986; Lehr & Trueb 2007), embora muitas das descrições e trabalhos antigos não tenham reportado ou descrito este caráter com maiores detalhes. Algumas espécies, como *Hyophryne histrio*, *Chiasmocleis shudikarensis* e *C. leucosticta*, apresentam tais estruturas, porém estas não foram mencionadas em suas descrições originais. Diversos autores relatam a presença de espinhos dérmicos como sendo um caráter de diferenciação sexual, encontrado com maior frequência nos machos adultos dos gêneros *Ctenophryne*, *Gastrophryne*, *Kalophrynus*, *Hoplophryne* e *Chiasmocleis* (Nelson, 1972; Zweifel & Myers, 1989, Cruz *et al.*, 1997). As asperezas nupciais são estruturas dérmicas que se desenvolvem em resposta aos hormônios testiculares (Duellman & Trueb, 1986). Devido a este fato, pode existir uma relação entre a presença de espinhos dérmicos com a fase reprodutiva. A função dos espinhos dérmicos na família Microhylidae ainda não está bem definida e diferentes hipóteses têm sido levantadas, associando estas estruturas ao comportamento

de defesa contra predadores (Lehr & trueb 2007) ou ao hábito de reprodução aquática (Parker, 1934).

A presença de espinhos dérmicos foi registrada em quase todas as espécies de *Chiasmocleis* analisadas. Este caráter foi amplamente utilizado para auxiliar a taxonomia do grupo, sendo caráter diagnóstico para algumas espécies. Assim como apontado por Nelson (1972 e 1973) em estudo sobre o gênero *Hypopachus*, variações relacionadas à densidade de espinhos, foram observadas para a maioria dos gêneros analisados. Nelson (1972 e 1973) relata que a fixação pode influenciar na preservação destas estruturas. Variações intra e interespecíficas para os espinhos dérmicos estão relacionadas ao tamanho, concentração em determinadas regiões e distribuição pelo corpo. O tamanho dos espinhos varia de acordo com a região do corpo e de espécie para espécie. Em geral, os espinhos presentes no abdômen e região cloacal são menores em relação aos espinhos presente nos dígitos. Cinco caracteres foram considerados a partir dos espinhos dérmicos:

19. Espinhos dérmicos nas fêmeas: (0) Ausente; (1) Presente.

20. Distribuição dos espinhos dérmicos no corpo das fêmeas: (0) cloaca; (1) dorso; (2) lateral; (3) patas.

Apesar dos espinhos dérmicos serem um caráter marcante nos machos, fêmeas de diversas espécies apresentam tais estruturas (Figura 16). A porção do corpo onde eles são mais facilmente encontrados nas fêmeas é a região no entorno da cloaca. Algumas espécies como *C. mantiqueira*, apresentam espinhos dispersos pelo dorso. Poucas espécies apresentam espinhos nas patas, sendo encontrado apenas em *C. magnova* e *Arcovomer passarelli* (Moravec & Kohler, 2007).

21. Presença de espinhos dérmicos nos machos: (0) ausente; (1) presente.

22. Espinhos dérmicos nos dígitos e fímbrias dos machos adultos: (0) ausente; (1) presente.

Os espinhos encontrados nos dígitos e fímbrias de machos adultos, estão presentes nas margens de tais estruturas. Espécies como *Chiasmocleis schubarti*, *C. avilapiresae*, *Hypopachus variolosus* entre outras (Figura 16), apresentam espinhos por toda a linha marginal das patas. É evidente a variação intra-específica deste caráter, podendo ocorrer espécimes com poucos espinhos a espécimes com fileiras completas. Em geral, os espinhos presentes nos membros são os de maior tamanho. *Arcovomer passarelli* é a espécie que apresenta os espinhos de maior tamanho, em geral concentrados nas postas posteriores. Os gêneros *Dermatonotus*, *Stereocyclops* e *Relictivomer* apresentam maior concentração de espinhos nos dedos I e II, com distribuição similar as asperidades núpcias encontradas em diversos anuros, podendo ser interpretado com mais uma evidência da relação destas estruturas com a reprodução.

23. Espinhos dérmicos no dorso dos machos adultos: (0) ausente; (1) presente.

24. Espinhos dérmicos no ventre dos machos adultos: (0) ausente; (1) presente.

Os espinhos presentes na região abdominal de machos adultos são, em geral, de difícil visualização devido ao seu tamanho reduzido, em comparação com os espinhos presentes em outras regiões. Quando presentes, os espinhos abdominais são mais fáceis de serem visualizados com o material molhado e em posição lateral. *Chiasmocleis carvalhoi* apresenta polimorfismo regional para este caráter. Os espécimes da região de

São Paulo e Rio de Janeiro apresentam o estado 1, enquanto a população do Sul da Bahia o estado 0.

25. Espinhos dérmicos da região gular dos machos adultos: (0) ausente; (1) presente disperso; (2) presente com aglomerado denso.

Este caráter foi descrito por Nelson (1972), na revisão do gênero *Gastrophryne*. Trabalhos mais recentes, como o de Lehr e Trueb (2007) e Peloso e Saturato (2008), reportam a presença e ilustram este caráter nos gêneros *Melanophryne* e *Chiasmocleis*, respectivamente. Segundo Lehr e Trueb (2007), os gêneros *Chiasmocleis*, *Ctenophryne*, *Dasypops*, *Dermatonotus*, *Elachistocleis*, *Gastrophryne*, *Hypopachus*, *Melanophryne*, *Nelsonophryne*, *Relictivomer* e *Stereocyclops* apresentam espinhos na região gular dos machos. A função de tal estrutura ainda é desconhecida, porém pode estar relacionada com a aderência durante o amplexo.

No gênero *Chiasmocleis*, este caráter não está presente em todas as espécies, sendo ausente para *C. alagoanus*, *C. capixaba*, *C. cordeiroi*, *C. crucis*, *C. leucosticta*, *C. mantiqueira* e *C. panamensis*. Três espécies apresentaram polimorfismo para este caráter, *C. albopunctata*, *C. mehelyi* e *C. jimi*. Dentre as espécies que apresentam espinhos na região gular podem ser encontrados dois padrões diferentes. No primeiro, os espinhos encontram-se esparsos pela região gular (estado 1) e no segundo, há concentração destes espinhos abaixo do queixo, formando faixas com grande densidade de espinhos (estado 2; Figura 16 A).

26. Asperidades nupciais nos dedos dos machos: (0) ausente; (1) presente.

As asperidades nupciais são estruturas sexuais secundárias, derivadas da derme e epiderme que são influenciadas pela estação reprodutiva e ação hormonal (Duellman &

Trueb, 1986). Tais asperidades ocorrem em muitas famílias de anuros, principalmente nas espécies com reprodução e amplexos aquáticos. Sua morfologia é bem diversificada, constituída de grandes espinhos coniformes ou pequenas e numerosas rugosidades. Em geral ocorre no primeiro e segundo dedos, e em espécies mais extremas pode estar presente no peito e ante-braço (Duellman & Trueb, 1986). Assim como as espículas dérmicas, as asperidades nupciais são pouco conhecidas ou raramente relatadas para os microhylídeos. Nos microhylídeos americanos as asperidades nupciais são descritas para os gêneros *Ctenophryne geayi*, *Nelsonophryne aterrima*, *N. aequatoriali* e *Melanophryne barbatula* (Zweifel & Myers, 1989; Lehr & Trueb, 2007). O gênero *Nelsonophryne* possui asperezas conspícuas na base no primeiro dedo e dorso do primeiro e segundo dedos, já *Ctenophryne geayi* são menos conspícuas, composta por uma região esbranquiçada na parte dorsal do primeiro, segundo e às vezes terceiro dedo. Lehr & Trueb (2007) relatam asperezas nupciais também para o gênero *Stereocyclops*, embora nada semelhante tenha sido observado nesse último gênero e aqui foi considerado como asperezas ausentes. Diferente das asperidades nupciais encontradas nos gêneros americanos, o gênero Africano *Kalophrynus yongi*, apresenta asperidades grandes e conspícuas em formato coniforme (Matsui, 2009).

Dobras dérmicas

27. Dobra Occipital: (0) ausente; (1) presente.

A presença de uma dobra occipital na região de trás da cabeça é comum em muitos microhilídeos (Dunn, 1949) e utilizada como caráter filogenético por Zweifel (1986) em seu caráter 1. A função desta dobra ainda carece de estudos mais específicos, mas é apontada por Nelson (1972), com a provável função de proteção para os olhos contra o ataque de formigas. A expressão desta dobra é variável, podendo ocorrer polimorfismo

em espécies que normalmente não apresentam dobra occipital. A análise de diversos indivíduos de *C. leucosticta*, *C. schubarti* e *C. avilapiresae* e fotografias de *C. panamensis*, revelou a presença desta dobra em fêmeas maduras, bem saudáveis e robustas. A presença de dobra occipital não foi registrada nos machos do gênero *Chiasmocleis*.

28. Dobra pós-orbital: (0) ausente; (1) presente.

Esta é uma dobra que se estende por detrás dos olhos até os ombros. Está presente na matriz de Wu (1994) em seu caráter seis, com os mesmos estados apresentados aqui. É encontrada em todas as espécies do gênero *Chiasmocleis*, com exceção de *C. magnova*, *C. mehelyi* e *C. panamensis*. Embora alguns trabalhos na literatura relatem um maior desenvolvimento desta estrutura para algumas espécies (Canedo *et al*, 2004), a variação intra-específica é muito marcada e atribuir um novo estado a este caráter não é indicado.

29. Número de dobras do palato: (0) Uma dobra presente; (1) duas dobras presentes.

A presença de uma ou duas dobras dérmicas transversais no palato (Figura 20) é considerada um dos caracteres diagnósticos mais marcantes dos microhilídeos (Wu, 1994; Zweifel, 1972). Mesmo assim, se encontra ausente em alguns Cophylines de Madagascar. Em outros microhilídeos uma ou duas dobras estão presentes na porção anterior da laringe, no teto da cavidade bucal. A primeira dobra em geral fica mais próxima das coanas, e a segunda, da laringe. Na maioria das espécies, quando ocorre a presença de ambas as dobras, a dobra posterior é de maior tamanho, atravessando toda a largura do assoalho bucal. As dobras podem ser lisas ou papiladas (Zweifel, 1972), e a condição de dobras papiladas é mais desenvolvida nos microilídeos da Nova Guiana e

América do Sul (Noble, 1931), embora poucas espécies analisadas neste estudo apresente tal condição.

Wu (1994) em seu caráter oito assume que *Chiasmocleis albopunctata* apresenta apenas uma dobra. Este resultado difere do encontrado no material analisado, onde *C. albopunctata* apresenta ambas as dobras.

30. Tamanho das dobras do palato: (0) dobra anterior de menor comprimento que a posterior; (1) Dobras anterior de mesmo tamanho ou levemente menor que a posterior.

Representa o caráter 114 de Ford (1990). Para todas as espécies analisadas a dobra posterior sempre é a maior, ocorrendo de um lado a outro no assoalho bucal. A dobra anterior foi a que se mostrou mais variável, podendo ser extremamente reduzida como em *Dasypops* ou de mesmo tamanho como na maioria das espécies de *Chiasmocleis* (Figura 20).

31. Forma da segunda dobra palatal: (0) lisa; (1) cremula.

A forma crenulada apresenta na sua superfície uma série de papilas. Wu (1994) em seu caráter nove, aponta a segunda dobra palatal com papilas como ocorrendo em alguns microhilídeos americanos e da Nova Guiné. Este caráter e o anterior, diferem bastante na forma como as espécies foram vistas por Wu (1994). Segundo ele, *Ctenophryne geayi* teria a primeira dobra crenulada; *Nelsonophryne aequatorialis* teriam a segunda dobra crenulada. Essas observações são discrepantes do observado aqui. Dentre as espécies com a primeira dobra notadamente menor, *Dasypops schirchi* foi a espécie que apresentou maior diferença em relação ao tamanho e elevação desta dobra, sendo a primeira evidentemente saltada e bem reduzida comparada com a segunda.

32. Condição da dobra cutânea corporal lateral: ausente (0); presente (1)

Wu (1994) em seu caráter 5, atribuía a presença e ausência de uma dobra corporal lateral. Segundo Wu esta dobra teria início na região posterior do olho, terminando na região da virilha. A dobra cutânea corporal lateral observada neste trabalho difere da apresentada por Wu (1994), por estar presente em uma posição mais inferior e ter seu início na região posterior do braço. A dobra cutânea corporal lateral está presente em apenas dois gêneros analisados *Elachistocleis* e *Relictivomer*.

Coloração

Padrões de coloração são amplamente utilizados como caracteres taxonômicos para a ordem Anura. Devido à grande variação encontrada, o padrão de coloração muitas vezes é considerado de difícil análise para fins filogenéticos (Scott, 2005). Portanto apenas os padrões mais consistentes e marcantes foram mantidos aqui. A identificação destes padrões e das suas variáveis pode fornecer informações relevantes à taxonomia do grupo.

33. Padrão do dorso: (0) Dorso uniforme, sem manchas ou desenho definidos; (1)

Manchas evidentes, espalhas pelo dorso ; (2) Desenho dorsal característico e definido.

O padrão do dorso uniforme sem desenho ou com manchas definidas e evidentes compreende a grande maioria dos gêneros americanos (Figura 17). Dentro deste estado podem ocorrer pequenos pontinhos mais claros ou tons esfumados homogêneos pelo dorso, freqüentes nas espécies como *Chiasmocleis leucosticta*, *C. carvalhoi* e *C. capixaba* (Figura 17C e D). O segundo estado deste caráter (estado 1), com manchas

espalhas pelo dorso, é característico das espécies *C. albopunctata* e *C. mehelyi* (Figura 17 B). Em geral, as manchas presentes nestas espécies estão mais concentradas na periferia do dorso. Foi observado uma grande variação na concentração e dispersão destas manchas em *C. albopunctata*. A espécie *Chiasmocleis bassleri* pode apresentar em vida manchas alaranjadas pelo dorso, por ser extremamente polimórfico e ausente em animais fixados essa espécie foi codificada no estado zero. O terceiro estado deste caráter (estado 2) é comum em muitas espécies de outros gêneros de microhilídeos sul-americanos, como *Hamptophryne* e *Stereocyclops*. Para o gênero *Chiasmocleis* esse padrão é encontrado em apenas uma espécie *Chiasmocleis panamensis* (Figura 17A) com um desenho triangular irregular (Dunn *et al.*, 1948).

Algumas espécies possuem um desenho dorsal característico, como setas em *Hyophryne histrio* e *Stereocyclops parkeri*, ou linhas irregulares como em *S. incrassatus* e outras formas. *Hamptophryne boliviana* e *Arcovomer passarellii* possuem, por exemplo, a mesma forma parecida com uma ampulheta. *Dyscophus guineti* pode apresentar uma forma arredondada no dorso (Glaw & Vences, 2007) e *Dasypops schirchi*, *Gastrophryne carolinensis* e *Hypopachus variolosus* costumam ter manchas no dorso, mas estas podem se juntar e formar um desenho, e são codificados na matriz com os dois estados

34. Padrão do ventre: (0) Liso sem manchas, ou esfumado ; (1) marmoreado, com manchas indefinidas; (2) ventre claro com manchas definidas escuras; (3) ventre escuras com manchas definidas claras.

O padrão de manchas abdominais é utilizado como um caráter taxonômico dentro do gênero *Chiasmocleis* (Cruz *et al.* 1997; Canedo *et. al.* 2004; Peloso & Sturaro, 2008). Basicamente são encontrados quatro padrões, aqui definidos em quatro estados deste

caráter (Figura 18). O padrão liso ou sem manchas definidas não apresenta qualquer tipo de ornamentação (Figura 18A). O padrão marmoreado ou reticulado (Figura 18B). Dentro deste estado, podem ser encontradas manchas escuras sobre fundo claro ou manchas claras sobre fundo escuro. A não utilização desta variação como novo estado ou caráter, foi adotada devido à grande dificuldade de se estabelecer tais diferenças em algumas espécies.

O padrão ventre escuras com manchas definidas claras está presente em quatro espécies *C. albopunctata*, *C. mehelyi*, *Ctenophryne geayi* e *Hyophryne histrio* (Figura 11). Para *C. albopunctata*, foram encontrados exemplares com poucas manchas e exemplares com o ventre completamente manchado. Estudos mais profundos dentro da variação geográfica desta espécie serão adotados no futuro. O último estado deste caráter ventre claro com manchas definidas escuras está presente no gênero *Chiasmocleis*, *Hypopachus* e *Nelsonophryne*. Variações nas manchas escuras no gênero *Chiasmocleis* são evidentes, onde *C. bassleri*, apresenta manchas grandes e circulares concentradas na região abdominal (Figura 18A) e *C. shudikarensis*, *C. avilapiresae* e *C. mantiqueira*, tem manchas irregulares ou em menor densidade e espalhadas de maneira mais uniforme (Figura 18D).

35. Cor do dorso em relação ao ventre: (0) dorso escuro/ventre claro: (1) dorso claro/ventre escuro.

36. Condição do padrão lateral do corpo: (0) há um gradiente entre a cor do dorso e do ventre ; (1) há uma margem regular na separação da cor do dorso e ventre ;(2) há uma linha fazendo a delimitação.

Na maioria das espécies analisadas, o padrão de coloração da região lateral representa um gradiente entre os padrões dorsais e laterais, não sendo possível observar uma linha ou uma separação evidente entre os padrões. Em *Hyophryne histrio*, *Ctenophryne geayi*, *C. minor*, *Chiasmocleis bassleri* e *Stereocyclops incrassatus* e *S. parkeri* há uma linha conspícua fazendo a separação do padrão ventral do dorsal (Zweifel & Myers, 1989). No gênero *Stereocyclops* essa linha pode ser evidente ou não, apresentando dois estados. Em outras espécies como *Hamptophryne boliviana* e *Elachistocleis bicolor* não existe uma linha na separação dos padrões, porém ocorre uma quebra bem definida entre os padrões dorsais e ventrais, formando uma margem.

37. Padrão gular igual ao ventre nas fêmeas: (0) presente; (1) ausente, padrões diferentes.

38. Região gular de machos adultos: (0) Enegrecida sobrepondo-se ao padrão do ventre; (1) Igual ao padrão do ventre.

Como descrito na seção de dimorfismo sexual, muitas espécies de *Chiasmocleis* e outros gêneros da família Microhylidae, apresentam a região gular dos machos adultos enegrecida. O estado 0 deste caráter apresenta o padrão de coloração na região gular totalmente escurecido (Figura 11). No estado 1, a região gular apresenta o mesmo padrão do ventre ou, em alguns casos, como *C. mantiqueira*, manchas mais agregadas, embora não ocorra o acúmulo de pigmentação negra.

39. Linhas corporais: ausentes (0); presente (1); ocorre de forma polimórfica (2)

As linhas corporais são: a dorsal, ou também chamada de vertebral, ventral, femoral e peitoral. Comumente são linhas claras e finas. Este caráter foi codificado de acordo com

Campbell & Frost (1993), de forma a tornar o polimorfismo um estado do caráter. Isso foi feito de modo a tentar extrair mais informação, que seria perdida caso o polimorfismo fosse incluído diretamente na matriz. O mesmo foi feito com cada linha corporal individualmente.

40. Linhas corporais, quando presentes: (0) ocorrem independentes uma das outras; (1) dependentes, ocorrem sempre juntas.

Apenas em *Stereocyclops incrassatus* e *S. parkeri* todas as linhas corporais sempre ocorrem juntas, quando presentes. Nas demais espécies, cada uma pode ocorrer independente da outra.

41. Linha Dorsal: (0) ausente; (1) presente; (2) ocorre de forma polimórfica.

A presença de uma linha dorsal que ocorre do focinho a região cloacal, é característica de maioria dos gêneros americanos (Figura 19). Algumas espécies com o estado 1 deste caráter podem apresentar variações na extensão da linha dorsal. É comum encontrar em exemplares de *C. leucosticta* a presença da linha dorsal somente na metade posterior do dorso.

42. Linha Femoral: (0) ausente; (1) presente e fina; (2) presente e grossa; (3) ocorre de forma polimórfica fina.

Na maioria das espécies a região posterior das coxas pode apresentar uma estreita linha branca (estado 1). Esta linha vai da região posterior da articulação, entre fêmur e tíbia, passando por cima da cloaca (Figura 19). Para as espécies *Elachistocleis bicolor*, *Relictivomer pearsei* e *Chiasmocleis panamensis* a linha femoral esta presente porem com largura bem acentuada.

43. Linha ventral : (0) ausente; (1) presente; (2) ocorre de forma polimórfica.

Assim como a linha dorsal, ela parte da ponta do focinho e segue até a parte posterior do corpo, podendo desaparecer antes. Pode cruzar com a linha peitoral na parte medial ventral e com a femoral, quando estas estão presentes.

44. Linha ventral e peitoral : (0) ausente; (1) presente; (2) ocorre de forma polimórfica.

A linha peitoral sempre ocorre combinada com a ventral, mas o oposto não ocorre. A linha peitoral pode ir de uma mão à outra passando pelos braços e ventre; ou pode estar restrita a região peitoral.

45. Mancha inguinal: (0) ausente ; (1) presente.

Muitas espécies de anfíbios apresentam uma mancha característica na região inguinal. A espécie da família Leiuperidae, *Eupenphix nattereri*, desenvolveu um comportamento defensivo atrelado diretamente a esta mancha. Quando estão acuados ou ameaçados, esticam as patas traseiras expondo as manchas circulares, que se assemelham a dois olhos. Embora este tipo de comportamento não tenha sido registrado para representantes da família Microhylidae, algumas espécies apresentam manchas na região inguinal, *Chiasmocleis shudikarensis*, *C. bassleri*, *Arcovomer passarelli*, *Hamptophryne boliviana* e *Hypopachus variolosus*. As manchas em geral são circulares, se estendem da região inguinal até o dorso (Figura 17).. A presença desta mancha é o principal caráter diagnóstico encontrado entre *C. shukarensis* e *C. avilapiresae*.

46. Visibilidade do tímpano:(0) não visível externamente; (1) visível externamente

Corresponde ao caráter 4 de Wu (1994). Parker (1934) afirma que a maioria dos gêneros possui ouvido médio completamente desenvolvido, apesar da pele que recobre o tímpano não ser mais fina e causar a condição descrita como tímpano não visível externamente. O tímpano é fracamente visível externamente em *Synapturanus mirandaribeiroi* e *Syncope antenori*. Zweifel (1986) afirma que *Syncope* e *Otophryne* também possuem o tímpano visível externamente. *Synapturanus salseri* e *Syncope carvalhoi* não possuem tímpano visível externamente e é caráter que a diferencia de *S. mirandaribeiroi* e *Syncope antenori* (Pyburn, 1975; Nelson, 1975). O ouvido é incompleto em *Melanobatrachus* e *Hoplophryne* (Parker, 1934) e, entre os gêneros americanos é incompleto em *Melanophryne* (Lehr & Trueb, 2007).

47. Tamanho do tímpano em relação ao olho: (0) pequeno, menos da metade do olho;(1) grande, quase do mesmo tamanho que o olho.

48. Posição da narina em relação a mandíbula:(0) na mesma linha que a mandíbula;(1) a frente da ponta da mandíbula.

Caráter utilizado por de Wu (1994), onde codifica a posição das narinas em relação a ponta da mandíbula. Em vista lateral as narinas podem estar alinhadas, posteriores ou anteriores a ponta da mandíbula. No presente estudo apenas dois estados foram encontrados nos gêneros analisados, mandíbula e narinas alinhadas e narinas a frente. Apenas três espécies de gêneros distintos apresentam o estado um, *Chiasmocleis panamensis*, *Elachistocleis bicolor* e *Relictivomer pearsei*.

4.4.2. Caracteres osteológicos

Crânio

49- Crânio dos adultos: (0) mais longos que largos; (1) mais largos que longos.

Para se estabelecer os estados deste caráter, foram feitas medidas da ponta do nasal até o côndilo (comprimento), e entre as extremidades distais da columela (largura).

50- Formato do frontoparietal na região posterolateral: (0) presença de um processo posterior lateral; (1) ausência de apresentar processos laterais.

Representa o caráter 55 de Wu. O frontoparietal na maioria das espécies recobre quase que completamente toda a parte posterior do crânio (Figura 10). Na maioria das espécies estes ossos têm formato retangular ou abaulado, e podem ou não apresentar projeções laterais na região posterior. A única espécie americana que apresenta tais processos é *Nelsonophryne aterrima*. Embora este processo não seja comum nos gêneros americanos, tais processos se fazem presentes em outros gêneros não americanos como, *Albericus*, *Cophyxalus*, *Aphantophryne*, *Callulops* entre outros.

51- Região posterior do frontoparietal: reta (0); com processo posterior (1).

Este caráter representa o caráter 58 de Wu 1994. Os frontoparietais podem apresentar uma projeção em direção ao côndilo occipital. Em algumas espécies este processo pode chegar próximo ao côndilo, ou ser afastado do côndilo. Em *Chiasmocleis avilapiresae* e *C. leucosticta* foi observado ambos os estados.

52- Margem anterior do frontoparietal: margem medial do frontoparietal na mesma linha que a porção lateral (0); parte medial se estendendo a frente da parte lateral do nasal (1).

Este caráter foi ilustrado por Wu 1994, (caráter 61) porem com a ocorrência de mais um estado não encontrado no material analisado. A margem anterior do frontoparietal pode ser reta, com as extremidades laterais aproximadamente na mesma linha que a extremidade medial ou levemente a frente (estado 0; Figura 10). Nestes casos a borda do frontoparietal não ultrapassa as bordas laterais dos nasais. Em outros casos, a região medial pode se estender em direção aos nasais, ficando com a borda medial a frente das porções laterais do frontoparietal e/ou dos nasais. Em algumas espécies como *Dasylops schirchi* e *Elachistocleis bicolor* que apresentam o estado 1 deste caráter, o frontoparietal se projeta tanto a frente que as região posterior do nasal se encaixam ao frontoparietal.

53- Nasal: (0) mais largos que longos; (1) mais longos que largos; (2) largura igual ao comprimento.

Wu (1994) utiliza a forma dos nasais como formas geométricas, em seu caráter 52. Como a maioria apresenta aspecto do nasal triangular, a largura em relação ao comprimento se mostrou mais informativo (Figura 21).

54- Cobertura do esfenetmóides e planum antorbitale pelo nasal: (0) não sobrepõem planum antorbitale, nem o esfenetmóides; (1) sobrepõem planum antorbitale e esfenetmóides.

Os nasais na sua borda posterior podem alcançar e cobrir a porção dorsal do *planum antorbital*, encobrindo assim a projeção dorsal do esfenetmóide, quando este está

projetado para o *planum antorbital* (Figura 10).. Variações no desenvolvimento do esfenetmóides serão discutidas a seguir nos caracteres 58-61.

55- Processo lateral do nasal: (0) ausente; (1) presente.

Caráter 53 de Wu (1994). Em vista dorsal, o nasal na maioria das espécies analisadas apresenta aspecto triangular com um processo lateral. Em vista lateral, observa-se que a margem lateral do nasal é paralela a maxila; apenas poucas espécies apresentam uma projeção que vai de encontro, mas sem articular com a maxila.

56- Processo apical do nasal: (0) ausente; (1) presente.

A região anterior do nasal pode apresentar um processo anterior, como em *Dermatonotus* (Figura 21B), ou ser linear com a região lateral como em *Stereocyclops* (Figura 21B) ilustra.

57- Processo pré-nasal medial: (0) ausente; (1) presente.

O processo pré-nasal é uma estrutura cartilaginosa que este associada à região anterior do nasal e a pré maxila (Figura 10 e 21). Este processo em geral apresenta duas projeções laterais, que se estendem para ambos os lados. A projeção medial é única e direcionada para porção anterior, estando na mesma linha que as extremidade internas dos nasais Figura (10 e 21B). *Gastrophryne carolinensis* e *Hypopachus variolosus* não tiveram suas cartilagens coradas, portanto na matriz estão com dados ausentes.

58- Projeção lateral/dorsal Esfenetmóides: (0) ausente ou reduzida; (1) presente.

O par de ossos endocondrais que compõem o esfenetmóide está na região anterior da caixa craniana. Wu (1994) utilizou o desenvolvimento desta região em seu caráter 65. Na maioria dos gêneros americanos é possível visualizar os esfenetmóides entre os nasais e margem anterior do frontoparietal (Figura 10). Uma das características presentes nos microhilídeos americanos é a presença de expansões laterodorsal dos esfenetimóides para a região do planum antorbitale, a frente da capsula ótica (Figura 10 e 23). Dois estados de desenvolvimento desta expansão foram observados, o primeiro onde não ocorre a projeção ou esta fica na porção inicial do planum antorbitale (estado 0; Figura 10B); ou com projeção desenvolvida alcançando a região mais distal do planum antorbitale (estado 1 Figura 23D). Embora alguma espécie tenham um grande desenvolvimento do esfenetmoide, estes nunca chegam a se articular com a maxila. Trueb (1973) sugere que a ausência de palatinos e vômer posterior resultam na maior expansão do esfenetmóide.

59- Projeção anterior do esfenetmóide: (0) presente, fazendo a borda posterior da coana; (1) ausente, não fazendo a borda posterior da coana.

Assim como no caráter anterior, onde o esfenetmóide tem expansão lateral, este osso também pode ser projetado na região ventral anteriormente formando a borda posterior das coanas (estado 0). Tal projeção pode estar relacionada a ausência de vômer posterior. Dentre as espécies que apresentam a expansão anterior do esfenetmóide *Dermatonotus* é o gênero com maior desenvolvimento deste processo, fazendo a delimitação da borda posterior e lateral da coana. Em *Hamptophryne* e *Arcovomer* o esfenetmóide não está expandido anteriormente, ele fica restrito na porção medial.

60- Fusão médioventral dos esfenetmóide: (0) ausente; (1) presente

Caráter sete de Ford (1990). O par de esfenetmóide na maioria dos anuros se encontra como uma peça única, completamente fundida. Esfenetmóides pareados é a condição mais comum em Microhylidae (Parker 1934). *Chiasmocleis mantiqueira*, *C. leucosticta* e *C. carvalhoi* podem apresentarm esfenetmóides fusionados. *Chiasmocleis leucosticta* e *C. carvalhoi* apresentaram polimorfismos com exemplares com esfenetmóides fusionados ou separados. Quando separados os esfenetmóides apresentam variações na proximidade entre si, sendo extremamente próximos em *Dermatonotus* ou bem separados como em *Arcovomer*, *Hamptophryne*, *Dasypops*, *Hyophryne* entre outros.

61- Esfenetmoide fazendo a borda anterior da fenestra óptica: (0) em contato com a borda da fenestra óptica; (1) sem contato com a fenestra óptica.

A região lateral da caixa craniana é recoberta pela porção lateral do esfenetimoide. Esta projeção lateral quando desenvolvida se estende até a borda anterior da fenestra óptica (Figura 10A e 21D, 22A), ou quando reduzida o esfenetimoide é separado da fenestra óptica por tecido fibroso ou cartilagem (Figura 10D e 21B, C). Wu (1994) no seu carater 64 utiliza a relação do esfenetimoide com a fenestra óptica. Embora nos gêneros americanos o estado dois deste caráter ocorra apenas em *Nelsonophryne aterrina* e *Melanophryne barbatula*, este estado é comum para espécies da subfamília Cophylinae (Wu 1994).

62- Alcance do processo cultriforme do parasfenóide: (0) longo, a frente do nível do palatino; (1) curto abaixo nível do palatino.

O processo anterior do parasfenóide também conhecido como processo cultriforme pode se estender anteriormente ao nível do vômer posterior e palatino caracterizando o estado

zero deste caráter. Um processo cultriforme curto é definido quando o processo não atingiu o nível da margem anterior do forame óptico.

63- Processo posterior do Parasfenóide: (0) presente; (1) ausente

A região posterior do parasfenóide pode apresentar um processo medial em direção ao foramen magno, sendo este estado o predominante nos microhyglideos americanos. Um parasfenóide sem o processo posterior é encontrado em *Chiasmocleis panamenses*, *Arcovomer* e *Relictivomer*.

64- Processo Cultriforme do Parasfenóide: (0) irregular; (1) reta; (2) em V; ponta (3).

65- Formato da asa do parasfenóide: (0) anguladas; (1) não anguladas

O parasfenóide presente em todos os anuros apresenta na porção posterior projeções laterais denominadas, asas do parasfenóide, que conferem a este osso o formato de T. As asas do parasfenóide podem ser direcionadas diretamente para os lados (estado 1), ou podem ser direcionadas levemente para a região posterior, formando um ângulo com sua linha média.

66- Sobreposição da porção medial do parasfenóide no proótico: (0) ausente; (1) presente

A região de sobreposição entre o parasfenóide e o proótico na maioria dos gêneros analisados ocorre na região medial posterior e pela asa do parasfenóide (estado 0, Figura 10A). Em algumas espécies a sobreposição ocorre apenas pelas asas do parasfenóide (estado 1 Figura 10D).

67- Anel timpânico: (0) ausente; (1) presente

O ouvido externo dos anfíbios é composto por um anel de cartilagem, o anel timpânico, localizado posterior ao ramo do esquamosal e ligado à fenestra oval pela columela. Wu (1994) no seu caráter de número 66 codificou *Synapturanus* com ausente de anel timpânico, estado divergente do apresentado neste estudo.

68- Otocipital com regiões do proótico e exocipital discerníveis; (1) com regiões não discerníveis.

A região do otocipital é composta por dois ossos o exocipital e o proótico. Em geral estas estruturas estão conectadas por uma expansão cartilaginosa que se projeta da crista parótica (Figura 10). Nesta região ocorre intensa mineralização ou se mantém em grande quantidade cartilaginosa, possibilitando a identificação do proótico e do exocipital como estruturas distintas. Em *Dermatonotus*, *Ctenophryne* essa região é completamente mineralizada não sendo possível distinguir os ossos. Já em algumas espécies de *Chiasmocleis* e outros gêneros a faixa cartilaginosa conspícua ficando evidente a distinção de ambos os ossos.

A subfamília *Asterophrynae* apresenta os extremos deste caráter, com os gêneros *Sphenophryne* e *Cophixalus* apresentando os ossos do Otocipital reduzidos, sendo esta região composta primordialmente pela faixa cartilaginosa (Zweifel, 1986). A não fusão do proótico com o exocipital devido a faixa cartilaginosa é considerado por Zweifel como sendo um estado pedomorfo.

69- Proótico: (0) sem projeções; (1) com projeções dorsais.

70- Crista parótica: (0) cartilaginosa; (1) mineralizada e desenvolvido,

71-Relação da crista parótica com o esquamosal: (0) esquamosal sobre a crista parótica; (1) esquamosal abaixo da crista parótica.

A região da crista parótica representa uma projeção que sai da região posterior do crânio em direção a região do ouvido (Figura 10). Em geral esta região apresenta uma relação, com o ramo óptico do esquamosal, sendo esta conexão feita por um tecido fibroso e cartilaginoso, pela região apical da crista parótica, com a região apical do ramo óptico do esquamosal. Em *Stereocyclops incrassatus*, *Ctenophrynae gaeyi*, esta relação se dá pela face dorsal da crista parótica, e pela face ventral do ramo óptico do esquamosal, que se projeta acima da crista parótica (estado 0). Em outras espécies como *Dasyposps* em que o crânio não é achatado dorsoventral, a crista parótica fica acima do ramo óptico do esquamosal, chegando a fazer uma dobra para a porção ventral.

72- Comprimento do processo ótico em relação ao processo zigomático do esquamosal: (0) mais longo; (1) aproximadamente do mesmo tamanho; (2) mais curto.

O esquamosal é uma estrutura trirradiada em forma de “T”, com o ramo ventral mais desenvolvido que os dois ramos superiores zigomático que vai em direção a capsula ótica, e o ramo óptico que vai em direção a crista parótica. Três estados foram estabelecidos para a relação do comprimento dos ramos do esquamosal, comparando a estrutura em vista lateral.

73- Projeções do ramo zigomatico do esquamosal: (0) ausente; (1) simples, com uma projeção pontiaguda ou não; (2) robusto quadrado, podendo apresentar duas projeções.

74- Direção dos ramos zigomático e óptico do esquamosal em vista dorsal: (0) no mesmo plano (paralelo ao crânio); (1) em planos diferentes (direcionadas ao crânio)

75- Ângulo entre esquamosal e maxila: (0) quarenta e cinco graus; (1) entre quarenta e cinco e noventa graus; (2) noventa graus.

Assim como Wu (1994) em seu caráter 82 o ângulo entre o ramo ventral do esquamosal e a maxila foi classificado em três estados diferentes. Dos gêneros americanos, apenas *Hypopachus* foi considerado por Wu (1994) como esquamosal e maxila perpendiculares. Este resultado difere do proposto aqui, em que classifica *Hypopachus* com ângulo entre 45° e 90°.

76- Posição da articulação do pterigóide, esquamosal e quadrado: (1) articulação posterior; (2) articulação anterior.

Em vista ventral ou dorsal é possível observar a altura do ponto de articulação do pterigóide, esquamosal e quadrado em relação ao côndilo (Figura 22). Nas espécies pertencentes aos gêneros *Stereocyclops*, *Ctenophryne* e *Hyophryne* esta articulação se encontra aproximadamente na mesma linha que opérculo, caracterizando a posição posterior (Figura 22B). Já para as demais espécies a altura desta articulação está à frente do opérculo, caracterizando a posição anterior da articulação (Figura 22A).

77- Pterigóide, processo dorsal posterior com projeção pontiaguda: (0) ausente; (1) presente.

A região posterior do pterigóide pode apresentar um processo dorsal. Este processo pode se apresentar de duas maneiras, uma com uma forma mais conspícua sendo

pontiagudo, ou de maneira mais discreta apresentando forma arredondada. Este processo é evidente em alguns gêneros como *Arcovomer*, *Hamptophryne* e algumas espécies de *Chiasmocleis*.

78- Ramo anterior do pterigóide: (0) em vista ventral, sobreposto pela pars palatina da maxila, em contato direto; (1) em vista ventral, separado por cartilagem, não esta em contato direto.

Wu (1994) em seu caráter 86 utiliza a relação do ramo anterior do pterigóide com a região da pars palatina da maxila. Estas estruturas podem estar fusionadas (Figura 22), ou separadas por uma faixa cartilaginosa (Figura 10). Alguns táxons em comum com Wu foram codificados em estados diferentes dos atribuídos aqui.

79- Ramo posterior do pterigóide: (0) reduzido; (1) desenvolvido.

80- Quadradojugal: (0) ausente; (1) reduzido, sem contato com a maxila; (2) desenvolvido, em contato com a maxila.

O quadradojugal é um osso diminuto que completa a arcada maxilar na sua região posterior. Articulado posteriormente com a cartilagem do quadrado e na porção anterior com a maxila (Figura 22), este osso dérmico pode apresentar variações quanto ao seu tamanho e desenvolvimento. Em geral quando este osso se apresenta reduzido esta redução ocorre da porção anterior para a posterior, tornando a arcada incompleta (Trueb, 1973; Figura 10).

Walker (1973) ao descrever o gênero *Syncope* apresenta em sua tabela 1 uma sinopse acerca de alguns caracteres morfológicos para microhylídeos americanos. Nesta tabela Walker codifica para os gêneros *Chiasmocleis*, *Elachistocleis* e *Synapturanus* como

animais com o quadradojugal conectado a maxila. As informações apresentadas por Walker são contraditórias aos dados deste estudo, onde estes gêneros apresentam maxila incompleta, não havendo a articulação do quadradojugal a maxila (Figura 10).

Assim como proposto por Zweifel (1986) em seu caráter 3 a relação do quadradojugal e codifica em três estados.

81- Quadradojugal, quando reduzido: (0) não pontiagudo; (1) pontiagudo

82- Maxila e pré-maxila: (0) maxila sobrepõe pré-maxila; (1) maxila não sobrepõe pré-maxila.

Na porção distal do crânio o desenvolvimento da maxila pode ou não sobrepor a pré-maxila. Esta sobreposição pode ocorrer em diferentes níveis podendo ocorrer uma leve sobreposição ou uma sobreposição parcial (condição *eleutherognathine*), e nos casos mais extremos ocorrendo à fusão das maxilas a frente da pré-maxila (condição *symphygnathine*). Apenas a condição *eleutherognathine* é encontrada nos microhilídeos americanos (Figura 24), e a condição *symphygnathine* esta restrita ao gênero *Asterophryne* da subfamília *Asterophryninae* (Zweifel, 1972). Este caráter foi utilizado por Zweifel (1972) para estabelecer a relação das espécies de *Microhylidae* da região da Nova Guiné.

83- Posição da pré-maxila: (0) alinhada com a maxila; (1) em posição mais ventral e posterior.

Independente do estado do caráter acima (81) a maxila pode estar alinhada com a pré-maxila, ou seja, o término de uma culmina no início da outra (estado 0). O não

alinhamento entre estas estruturas acarreta em um posicionamento posterior da pré-maxila em relação ao término na maxila (Figura 24).

84- Processo alar da pré maxila: (0) reto; (1) curvo somente na ponta; (2) curvo por inteiro.

O caráter 4 de Zweifel (1986) refere-se a orientação dos processos alares e a indentação da *pars palatina* da pré-maxila. Aqui foram separados em dois caracteres.

85- Pré-maxila, pars palatina: (0) Longa e com processos laterais mais desenvolvidos; (1) curta; (2) desenvolvida e reta.

Os estados deste caráter podem ser visualizados na figura 22, 23 e 24

86- Maxila, pars facialis : (0) triangular; (1) retangular.

Com expansão na região próxima ao nasal até a parte posterior (stereocyclops). Pars facialis com expansão concentrada na região do nasal (Chiasmocleis). Pars facialis e região posterior da maxila com a mesma altura (expansão) (stereocyclops); pars facialis de altura notadamente maior q região posterior da maxila (chiasmocleis)

87- Maxilla, pars palatina: (0) desenvolvida na porção anterior; (1) desenvolvida igualmente; (2) ausente

88- Palatino: (0) ausente; (1) presente.

O osso Palatino é um osso dérmico que está presente na região anterior a órbita (região ventral do *planum antorbitale*). O Palatino apresenta uma série de reduções e fusões dentro a diversidade de Microhylidae (Parker 1934). Dentre os gêneros americanos

existem espécies completamente desprovidas de Palatino (*Chiasmocleis*, *Elachistocleis*, *Dermatonotus* e etc) e gêneros com palatinos desenvolvidos *Stereocyclops*, *Nelsonophryne*, *Melanophryne* e *Arcovomer* (Figura 23). Há ainda espécies que apresentem esta estrutura de forma reduzida como *Hamptophryne boliviana* (Sá & Trueb, 1991). Trueb (1973) diz que a ausência de elementos palatais pode gerar uma mineralização intensa da região da cartilagem do *planum antorbitale*, tal processo foi observado *Dermatonotus*, *Syncope* e algumas espécies do gênero *Chiasmocleis*. Entretanto a mineralização desta região não foi observado para *Ctenophryne*, *Elachistocleis* e algumas espécies de *Chiasmocleis*. O caráter 5 de Zweifel (1986) se refere a presença de vômer anterior, vômer posterior e palatino e suas relações entre si, aqui foram separados em caracteres distintos. Segundo Zweifel (1986) e Carvalho (1954) as espécies *Arcovomer passarellii* e *Hamptophryne boliviana* não possuem palatino, resultado discordante do apresentado aqui, onde *Arcovomer passarellii* foi codificado com palatino presente e *Hamptophryne boliviana* é codificado como polimórfico.

89- Vômer posterior: (0) ausente; (1) presente.

O vômer também chamado de pré-vômer por alguns autores, é considerado um dos elementos mais variáveis na família Microhylidae (Parker, 1934; Trueb, 1973). O vômer, esta associado a toda região ventral da capsula nasal ao redor das coanas (Figura 10 e 23). Nos Microhylidae existe uma tendência que leva a subdivisão do vômer em duas partes discretas, anterior e a porção posterior, denominado vômer posterior (Trueb, 1973). A parte anterior esta atrelada ao suporte nasal, e fazendo a borda lateral da coana. A porção posterior, esta posicionada na porção posterior da capsula nasal, e é freqüentemente perdida. Dentre os microhilídeos americanos não existe nenhuma

espécie conhecida que apresente vômer com a porção anterior e posterior fusionadas, e em sua maioria ocorre à perda completa da porção posterior. As espécies que foram codificadas com a presença do vômer posterior foram, *Arcovomer passarelli*, *Stereocyclops incrassatus*, *S. parkeri* e *Hyophryne histrio*.

90- Palatino e vômer posterior, quando presentes: (0) em contato ou até fusionados; (1) sem contato.

Corresponde ao caráter 97 de Wu (1994), porém com um estado a menos (ausência de vômer e palatino). Em muitas espécies a presença do vômer posterior e palatino acarreta na fusão destes dois elementos (Figura 23). Dentre as espécies analisadas a única que apresenta vômer posterior e palatino não fusionados é *Hamptophryne boliviana*.

91- Vômer anterior: (0) sem corpo desenvolvido; (1) com corpo desenvolvido

92- Projeções do Vômer anterior: (0) projeção posterior mais desenvolvida; (1) projeção medial mais desenvolvida; (2) projeções com tamanhos semelhantes.

Pós Crânio

93- Clavículas: (0) ausentes; (1) presentes.

De forma geral a clavícula esta presente na maioria dos grupos de anfíbios, se articulando lateralmente há cartilagem glenóide da escápula e medialmente ao procoracóide (Figura 26). A família Microhylidae é uma das poucas que apresentam cinturas com ausência completa de clavículas (Trueb, 1973). Wu (1994) utiliza a existência e desenvolvimento da clavícula em seu caráter 150.

94- Desenvolvimento da clavícula: (0) desenvolvida e em contato proximal do coracóide; (1) em contato médio distal do coracóide; (2) clavícula desenvolvida em contato ou próximo a glenóide;

O desenvolvimento da clavícula é um dos caracteres mais importantes para taxonomia de Microhylidae (Parker, 1934; Carvalho, 1954). Nos microhilídeos existe uma tendência a redução da clavícula, e em casos mais extremos ocorre à perda total dessa estrutura (Figura 26F). Segundo Trueb (1973) a redução da clavícula ocorre da porção medial em direção a distal. Nos microhilídeos americanos a clavícula pode se desenvolver completamente articulando-se ou não à cartilagem glenóide da escápula (estado 2; Figura 26A), ser reduzida e em contato proximal ao coracóide (estado 0; Figura 26D), e ser pouco desenvolvida e se estender até a porção distal do coracóide (estado 1; Figura 26C e E). De acordo com os padrões observados a redução da clavícula nos microhilídeos americanos (Figura 26) parece ocorrer na direção distal para proximal, e não distal proximal assumido por Trueb (1973).

95- Contato da clavícula com a cartilagem glenoide: (0) ausente; (1) presente.

96- Ângulo da clavícula em relação à linha média do corpo: (0) perpendicular; (1) em ângulo.

97- Forma da porção distal da clavícula: (0) reta; (1) curvada no coracóide; (2) curvada na altura distal do coracóide e glenóide.

A região distal da clavícula pode apresentar uma curva, seguindo a orientação do coracóide (estado 1; Figura 26C, D e B) como em *Elachistocleis ovalis*, *Chiasmocleis panamensis*. Nas espécies com clavículas mais desenvolvidas a região distal faz uma

curva em direção a cartilagem glenóide (estado 2 Figura 26 A e B), como encontrado em *Stereocyclops*, *Hyophrne*. Já nas espécies com clavículas pouco desenvolvidas a região distal pode não apresentar nenhum tipo de curvatura e estar apontando diretamente para o coracóide (estado 0; Figura 27).

98- Procoracóide: (0) ausentes; (1) presentes.

99- Desenvolvimento do procoracóide: (0) pouco desenvolvido, sem contato com nada; (1) desenvolvido, em contato com a parte medial do coracóide; (2) desenvolvido, em contato com a glenóide; (3) interrompido.

O desenvolvimento do procoracóide é tratado por Wu (1994) em três caracteres (155, 156 e 157). Assim como a clavícula procoracóide também apresentou diferentes níveis de desenvolvimento. As espécies que com procoracóide curto (estado 0) apresentam esta estrutura apenas na região medial da cintura e conectadas a clavícula apenas na sua porção medial (Figura 26 B, D). Já as espécies que apresentam o estado um deste caráter, tem o procoracóide sustentando a clavícula em todo seu comprimento (Figuras 26 E , 27). O terceiro estado deste caráter, procoracóide interrompido, se refere a presença de dois elementos que o compõe, elementos mediais e laterais, sem contato entre si (Figura 26 A, C).

100- Contato entre o coracóide e o esterno: (0) esterno se projeta entre as porções mediais do coracóide; (1) esterno se projeta da porção posterior do coracóide; (2) esterno se projeta da porção distal medial do coracóide.

Os dois coracóides na região medial posterior podem estar separados um do outro ou estritamente separados. A parte posterior do ramo medial do coracóide e afastada uma

da outra e o contato do esterno ao coracóide ocorre entre as duas porções mediais (Figura 26 D). Este estado confere um formato de meia lua entre o coracóide e o esterno. Em *Dermatonotus* e *Ctenophryne* o coracóide se apresenta estritamente separado, e sua região posterior faz uma curva brusca para a porção posterior, conferindo a estes uma forma em seta (Figura 26 B, F).

101- Epicoracóide: (0) ausente; (1) presente

102- Contato do epicoracóide com o procoracóide: (0) presente; (1) interrompida; (2) ausente.

Três estados foram codificados para este caráter, o primeiro é o mais comum, com o epicoracóide contínuo ao procoracóide (Figura 27 A). O segundo estado apresenta a ligação entre o epicoracóide e procoracóide interrompida (Figura 27 B). No terceiro estado a ligação entre essas estruturas foi perdida por completo (Figura 27 C).

103- Tipo de coluna: (0) procela, a última é e normal em procela; (1) diplasiocela a última é bicôncava em diplasiocela

As definições de tipo de coluna estão de acordo com Trueb (1973), com base em uma modificação das definições de outros autores. A coluna procela se refere a quem tem todas as vértebras com centrum holocordal, côncava anteriormente e convexa posteriormente. A coluna diplasiocela é como a procela, com exceção da última vértebra pré-sacral que é bicôncava. *Synapturanus mirandaribeiroi* e *Myersiella microps* apresentaram os dois tipos de coluna. A respeito dos demais tipo de coluna existentes, Parker (1934) afirma que em Microhylidae ocorre apenas procela e diplasiocela. O tipo de coluna é o caráter 140 de Wu (1994). Ele observa que o tipo de coluna é constante

em Cophylinae, Dyscophinae, Scaphiophryninae e Phrynomerinae, mas variável em Asterophryinae e Microhyliinae. O último ainda contendo os gêneros americanos.

104- Fusão das vértebras pré-sacrais I e II: (0) ausente; (1) presente.

A utilização do número de vértebras pré-sacrais vem sendo utilizado desde os primórdios da sistemática de anuros (Nicholls, 1916; Noble, 1922). Segundo Griffiths (1963) maior número de vértebras é considerado um estado plesiomórfico e a redução do número de vértebras o estado mais derivado.

105- Isquium: (0) sem projeção dorsal; (1) com projeção dorsal.

106- Cristas neurais: (0) pouco desenvolvidas; (1) bem desenvolvidas ao menos nas primeiras vértebras pré-sacrais.

Dentre o material analisado as espécies com espinhos mais desenvolvidos foram: *Stereocyclops incrassatus*, *Dasypops schirchi* e *Hamptophryne boliviana*. Estes espinhos são elevados dorsalmente, chegando a sobrepor completamente a vértebra seguinte. Isso ocorre nas pré-sacrais I, II e III, as demais os espinhos são menos desenvolvidos.

107- Processos transversos: (0) pouco desenvolvidos, curto; (1) bem desenvolvidos, longo.

O tamanho dos processos transversos não é constante entre as os anuros, podendo variar em relação ao tamanho, largura e direção (Lynch, 1971). Segundo Lynch (1973) as processos transversos afilados e menores que a diapófise sacral são características primitivas nos anuros. Na maioria dos exemplares analisados as vértebras II e III

apresentam processos transversos maiores, em relação as demais, sendo mais fácil a distinção deste caráter nas vértebras posteriores. Processos transversos pouco desenvolvidos (estado 0) são aqueles em que o comprimento não supera a largura da vértebra e processos transversos longos foram são aqueles em que o comprimento supera a largura da vértebra.

108- Processo medial no processo transverso da vértebra III: (0) ausente; (1) presente.

No processo transverso da III vértebra pré-sacral pode ocorrer a presença de um pequeno processo orientado para a porção anterior (Figura 25 A). Em geral este processo ocorre na porção dorsal do processo transverso. Em algumas espécies tal processo pode ser mais conspícuo apresentando a forma de um espinho, encontrado na maioria das espécies do gênero *Chiasmocleis* com ocorrência no Cerrado e na Mata Atlântica. Em *Chiasmocleis hudsoni*, *C. jimi*, *C. superciliarbus*, *C. ventrimaculata* e *Ctenophryne geayi* este processo é menos pronunciado e mais arredondado. A ausência deste processo ocorre em *C. bassleri* e *C. panamensis* e pode estar relacionada à utilização de exemplares jovens na análise osteológica.

109- Relação comprimento largura das vértebras pré-sacrais VI-VIII. (0) mais largas que longas; (1) mais longas que largas.

Em geral a relação entre largura e comprimento das vértebras pré-sacrais é bem conservada para os microhilídeos neotropicais, onde a maioria apresenta vértebras pré-sacrais mais largas que longas (estado 0). Nos gêneros *Elachistocleis* e *Relictivomer* ocorre um aumento significativo do comprimento das últimas pré-sacrais, tornando essas mais longas que largas (estado 1). Outro padrão bem conservado nos gêneros

analisados é a redução do comprimento da pré-sacral II, que apresenta largura duas vezes maior que o comprimento.

110- Vértébras pré-sacrais imbricadas: (0) ausente; (1) presente

Vértébras imbricadas fazem com que o canal neural fique completamente coberto (estado 1). Já vértebras não imbricadas deixam exposto o canal neural (estado 0). Embora exista uma relação entre o grau de ossificação e a presença de vértebras imbricadas (mais ossificação cobre mais o canal), espécies com clara redução de ossificação podem apresentar vértebras imbricadas (Lynch, 1973).

111- Direção do processo transversal das vértebras pré-sacrais VII e VIII: (0)

direcionada para a porção anterior; (1) direcionado lateralmente e/ou levemente para a porção anterior.

O processo transversal das vértebras pré-sacrais VII e VIII pode ser direcionado drasticamente para a porção anterior em relação ao eixo central, com a sua extremidade apical ultrapassando o limite da vértebra anterior (estado 0; Figura 25 B); ou direcionado para a porção lateral ou levemente anterior, não chegando a ultrapassar o limite da vértebra anterior (estado 1; Figura 25 C, D). A codificação conjunta da orientação do processo transversal das vértebras VII e VIII foi feita devido a estes estados se apresentarem da mesma maneira, não havendo necessidade de se parar em mais de um caráter.

112- Direção do processo transversal das vértebras pré-sacrais VI: (0) direcionada

para a porção anterior; (1) direcionado lateralmente e/ou levemente para a porção anterior.

- 113- Número de falanges no I dedo:** (0) uma falange; (1) duas falanges.
- 114- Número de falanges no IV dedo:** (0) três falanges; (1) duas falanges.
- 115- Tamanho das expansões terminais das falanges dos dedos:** (0) igual; (2) diferentes
- 116- Tamanho das expansões terminais das falanges dos artelhos:** (0) igual; (2) diferentes.

5. Análise Filogenética

A análise filogenética com 116 caracteres para 37 táxons pertencentes a 16 gêneros de *microhylídeos* americanos resultou em uma única árvore mais parcimoniosa de 490 passos, índice de consistência de 0.308 e índice retenção 0.562 (Figura 28, 29 e 30).

A árvore enraizada em *Nelsonophryne aequatorialis* apresenta uma dicotomia basal (nó 46) que separa os microhilídeos amostrados em dois clados, 63 e 45, sustentados por valores de Bremer de 3 e 1, respectivamente (Figura 28, 29 e 30). O clado 63 agrupa três gêneros *Stereocyclops*, *Hyophryne* e *Ctenophryne* sustentado por nove sinapomorfias destas duas exclusivas (Figura 28, 29 e 30), ângulo de 45° entre o esquamosal e maxila (75.0), posição posterior da articulação do pterigóide, esquamosal e quadrado (76.0). O clado 45 é, por sua vez, formado pelos gêneros *Dermatonotus*, *Hypopachus*, *Hamptophryne*, *Arcovomer*, *Gastrophryne*, *Dasypops*, *Elachistocleis*, *Relictivomer*, *Myersiella*, *Synapturanus*, *Chiasmocleis* e *Syncope*, sendo sustentado por quatro sinapomorfias destas três exclusivas (Figura 28, 29 e 30): segunda dobra palatal lisa (31.0); vômer anterior sem corpo desenvolvido (91.0), projeções do vômer de tamanho igual (92.2).

A subdivisão do clado 45 ocorre com a formação do clado 66 ao agrupar *Dermatonotus* e *Hypopachus* como grupo-irmão dos demais microhylídeos, com *Hamptophryne boliviana* na base do clado 44, ambos os clados apresentam valores de Bremer de 2 (Figura 28, 29 e 30). O clado 66 é sustentado por quatro sinapomorfias homoplásticas: nasal longo(53.1), processo apical do nasal presente (56.1), proceção laterodorsal do esfenetmoide (58.1), procoracóide pouco desenvolvido (99.0). O clado 44 por sua vez, é sustentado por uma sinapomorfia homoplástica (5.0) e por sete

sinapomorfias exclusivas (Figura 28, 29 e 30): fimbrias nos artelhos ausentes (6.0), ramos óptico e zigomático do esquamossal em mesmo palmo (74.0), clavícula em contato médio distal do coracóide (94.1), ausência de contato da clavícula a cartilagem glenóide (95.0), porção distal da clavícula curva (97.0), contato medial do coracóide e esterno (100.0).

O clado 43 (Bremer de 2) agrupa os gêneros *Arcovomer* mais *Gastrophryne ssp* (clado 62) e os gêneros *Chiasmocleis*, *Relictivomer*, *Elachistocleis*, *Dasylops*, *Synapturanus*, *Myersiella* e *Syncope* (clado 42). Nove sinapomorfias sustentam o clado 43, destas duas exclusivas: presença de espinhos gulares (24.1), e quadradojugal sem contato com a maxila (80.1). O clado 62 (Bremer de 1) composto pelo gênero *Arcovomer* irmão das duas espécies de *Gastrophryne*, *G. caroliensis* e *G. elegans* é sustentado por três sinapomorfias ambíguas (38.0; 40.0; 64.0). O clado 42 (Bremer de 1) apresenta na base a espécie transandina de *Chiasmocleis*, *C. panamensis*, irmão do clado 41 (Bremer de 1) formado pelos gêneros *Relictivomer*, *Elachistocleis*, *Dasylops*, *Synapturanus*, *Myersiella* e demais espécies de *Chiasmocleis*. Este clado apresenta uma dicotomia basal, formando dois cladogramas 65 e 40 ambos com valor de Bremer de 1. O clado 65 é suportado por quatro sinapomorfias ambíguas (52.1; 54.1; 85.0; 99.0) agrupa os gêneros *Relictivomer* e *Elachistocleis* (clado 69; Bremer de 2) clado irmão de *Dasylops*, *Synapturanus* e *Myersiella* (clado 64; Bremer de 3).

O clado 40 (Bremer de 1) inclui todas as espécies dos gêneros *Chiasmocleis* e *Syncope*, com exceção de *C. panamensis* (Figura 28, 29). Este clado é sustentado por três sinapomorfias não ambíguas: dobra occipital ausente (23.0), porção distal da clavícula reta em direção ao coracóide (98.0), presença de um espinho medial no processo transversal da terceira vértebra sacral (107.1). As duas primeiras sinapomorfias representam reversões do estado 1 presente nos grupos externos. A presença de um

espinho medial no processo transversal da terceira vértebra sacral (107.1) ocorre de forma homoplástica nos gêneros *Nelsonophryne*, *Gastrophryne* e no clado 40, sendo perdido independentemente em duas espécies de *Chiasmocleis* dentro deste clado (*C. bassleri* e *C. magnova*) (Figura 30).

Dentro do clado 40, poucos agrupamentos foram encontrados entre as espécies do gênero *Chiasmocleis*. Os principais os grupos encontrados foram: Clado 38 (Bremer de 3) agrupa as espécies com ocorrência nos biomas de vegetação aberta da América do Sul, (*C. albopunctata* e *C. mehelyi*) e encontra-se sustentado por quatro sinapomorfias: segundo dedo menor que o quarto dedo (7.1); artelho II maior que o artelho V (25.1); manchas no dorso definidas (29.1); coloração do ventre escura com manchas claras (30.2). A presença de um artelho II maior que o artelho V (25.1) representa uma sinapomorfia exclusiva do clado 38 (Figura 30).

O clado 58 (Bremer de 1) é sustentado por duas sinapomorfias: ramo zigomático do esquamosal simples (73.1) e falange terminal do primeiro dedo distinta das demais (114.0). Este clado agrupa a espécie amazônica *C. ventrimaculata* com *C. carvalhoi* endêmica da Mata Atlântica. O clado 57 (Bremer de 2) suportado por duas sinapomorfias (42.2; 43.2) agrupa duas espécies da Mata Atlântica *Chiasmocleis leucosticta* e *C. capixaba* com uma espécie amazônica *C. shudikarensis*. O caráter 43, ausência ou presença da linha peitoral e ventral, representa uma sinapomorfia exclusiva (Figura 30).

O Clado 54 (Bremer de 3) agrupa os representantes do complexo de espécies de *Chiasmocleis bassleri*, *C. supercilialbus* e *C. bassleri* (Figura 28, 29). Este clado é suportado por seis sinapomorfias homoplásticas (12.1; 30.1; 35.2; 36.1; 44.1; 49.1) dentre estas apenas o caráter 35, padrão lateral do corpo demarcado por uma linha, não ocorre de forma homoplástica em outras espécies do gênero *Chiasmocleis*.

O clado 61 agrupa *Chiasmocleis magnova* e as espécies do gênero *Syncope*, *S. carvalhoi* e *S. antenori*. Suportado por sete sinapomorfias homoplásticas (7.1; 8.1; 12.2; 13.0; 14.0; 108.0; 114.1) e duas exclusivas, pontas dos dedos achatadas (18.2) e redução no número de falanges do dedo I (113.1), este clado foi o que apresentou maior suporte, com valor de Bremer igual a 8 (Figura 28, 29 e 30).

6. Discussão

6.1. Monofiletismo do gênero *Chiasmocleis*

Embora alguns autores relatem a possibilidade do gênero *Chiasmocleis* não ser monofilético (Walker & Duellman 1974; Zweifel 1986; Wu ,1994; Greenbaum, 2006), este tema nunca havia sido analisado adequadamente. As hipóteses filogenéticas propostas até o presente momento nunca abrangeram um número de espécies do gênero *Chiasmocleis* superior a quatro (Zweifel, 1986; Wild, 1995; Wu ,1994; Greenbaum, 2006; Van der Meijan, 2007). O presente estudo analisou 18 das 25 espécies descritas, representando o trabalho com a maior abrangência taxonômica para o gênero *Chiasmocleis*.

O monofiletismo do gênero *Chiasmocleis* é rejeitado no presente estudo, com o gênero *Syncope* enraizando-se no ápice da linhagem formada pelas espécies do gênero (clado 61; Figura 28, 29 e 30). Além disso, *Chiasmocleis panamensis* não se agrupa com as demais espécies do gênero, se posicionando na base do clado 42 como o grupo-irmão do clado 41 formado por *Relictivomer pearsei*, *E. bicolor*, *Dasypops schirchi*, *Synapturanus mirandaribeiroi*, *Myersiella microps* e as demais espécies de *Chiasmocleis* e *Syncope* (Figura 28, 29 e 30), tornando o gênero polifilético.

O clado 42 está sustentado por uma sinapomorfia não-ambígua e três ambíguas: desenvolvimento medial do coracóide (99.1), nasal mais longo que largo (53.1), projeções duplas do ramo zigomatico (73.2) e pterigóide e maxila separados por cartilagem (78.1). A proposta filogenética de Wu (1994) já havia demonstrado o não monofiletismo do gênero *Chiasmocleis*, ao agrupar *C. panamensis* com *Elachistocleis*.

Na proposta de Wu o clado (*C. panamensis* + *Elachistocleis*) é sustentado por sete sinapomorfias, destas nenhuma exclusiva.

Em termos fenotípicos, *C. panamensis* apresenta uma combinação de características morfológicas primitivas e derivadas que também são observadas nos gêneros *Elachistocleis* e *Relictivomer*, por um lado, e *Hamptophryne* e *Arcovomer* por outro lado, mas estão ausentes nas demais espécies de *Chiasmocleis*. A combinação de caracteres que os distancia fenotipicamente de *Chiasmocleis* é a seguinte: o posicionamento da narina a frente da maxila (caráter 48), a presença de uma faixa femoral larga (caráter 38) e de uma dobra lateral (caráter 47) são caracteres presentes em *C. panamensis* e os dois primeiros gêneros citados acima, enquanto que a ponta distal da clavícula curva (caráter 98) e o padrão de desenho dorsal (caráter 33, Figura 17) são observados em *C. panamensis* e nos dois últimos gêneros. Caracteres referentes à vocalização não foram incluídas nas análises, porém Nelson (1973) ao analisar a vocalização de diversos gêneros americanos, ressalta a distinção na estrutura do canto de *Chiasmocleis panamensis* com as demais espécies do gênero. Este dado amplia as evidências da denominação genérica errônea para *C. panamensis*.

Com o posicionamento encontrado para *C. panamensis*, duas alternativas taxonômicas poderiam ser adotadas: (1) designar um novo gênero para a espécie; ou (2) estender a definição do gênero *Chiasmocleis* Méhely 1904 para todo o clado 42, o que resultaria em 15 alterações taxonômicas. No intuito de manter o monofiletismo de *Chiasmocleis*, e visando um menor número de alterações taxonômicas, recomenda-se alocar *C. panamensis* em um novo gênero.

A formação do clado 61 apresenta *Chiasmocleis magnova* como espécie irmã do clado 72 que corresponde às duas espécies amostradas para o gênero *Syncope* (*S. antenori* e *S. carvalhoi*). Dentro da linhagem do gênero *Chiasmocleis*, o clado 61 é o

mais bem sustentado, com índice de Bremer de 7 (Figura 29). Este clado inclui o gênero *Syncope* e é sustentado por nove sinapomorfias, sendo duas exclusivas (caracteres 18 e 113): segundo dedo maior que o quarto (7.1), quarto dedo abaixo do primeiro tubérculo do terceiro dedo (8.1), presença de um tubérculo no quarto dedo (12.2), ausência de tubérculos no quinto artelho (13.0), tubérculo palmar inteiro (14.0), ponta dos dedos com forma achatada (18.2), ausência do processo medial no processo transversal da vértebra III (108.0), apenas uma falange no dedo I (113.1), redução de falanges no IV dedo (114.2). O clado 72, formado pelas duas espécies do gênero *Syncope*, encontra-se sustentado na presente análise por quatro sinapomorfias. Destas, apenas a fusão das primeiras vértebras (104.1) é exclusiva ao clado (Figura 30)

A partir de dados moleculares, Greenbaum (2006) sugere que *Syncope* fosse transferido para *Chiasmocleis*, devido ao seu posicionamento dentro do clado contendo mais quatro espécies de *Chiasmocleis* (Figura 5). Ao analisarem um *Microhylidae* *incerta sedis* que apresentava características intermediárias entre *Syncope* e *Chiasmocleis*, Duellman e Mendelson (1995) apontaram para a relação próxima entre ambos os gêneros. Devido à fragilidade da diagnose do gênero *Syncope*, Duellman e Mendelson (1995) relatam a possibilidade da sinonímia de *Syncope* com *Chiasmocleis*. Dentre todas as espécies de *Chiasmocleis*, *C. magnova* se destaca por apresentar claramente caracteres fenotípicos intermediários entre *Chiasmocleis* e *Syncope*, principalmente a redução de dígitos (Figura 15). Embora de maneira menos extrema *Chiasmocleis jimi* e *C. hudsoni* já apresentam reduções nos dígitos, demonstrando que a redução corresponde a uma série de transformação evidente nos táxons mais derivados. A redução de dígitos já era apontada por Zweifel (1986) como sendo um conjunto de caracteres que poderia evidenciar a relação entre *Syncope* e *Chiasmocleis*.

Uma característica interessante neste clado é a modificação em relação à cartilagem do epicoracóide e procoracóide. Nas espécies basais de *Chiasmocleis* a cintura apresenta um externo cartilaginoso contíguo ao epicoracóide, e este é ligado ao procoracóide (Figura 27). Nos táxons mais derivados deste clado, a partir do nó 61 (Figura 28), a cartilagem do procoracóide não está contígua ao epicoracóide, estado encontrado em *Chiasmocleis magnova*, e nas espécies do gênero *Syncope* (Figura 27 C). O interessante é o estado desta cartilagem nos táxons intermediários, clado 59 *Chiasmocleis jimi* e *C. hudsoni*, onde a cartilagem do epicoracóide ao procoracóide ocorre de maneira tênua e interrompida e não sólida como nas demais espécies (Figura 27 B). Esta série de transformação fortalece a relação entre o gênero *Chiasmocleis* e *Syncope* e evidencia a perda da ligação do epicoracóide com o procoracóide, nos táxons mais derivados e de menor porte.

Moravec e Kohler (2007), ao descrever *C. magnova*, assume a designação da nova espécie em *Chiasmocleis* por se tratar de uma espécie que não apresentava fusão das vértebras pré-sacrais I e II, presentes em *Syncope*. A redução do número de vértebras é comum em outros gêneros de microhilídeos americanos, porém com menor frequência, onde as espécies podem ou não apresentar tais fusões (Zweifel, 1986). Ao descrever o gênero *Syncope*, Walker (1973) acreditava que o novo gênero representava uma linhagem independente dos demais gêneros de microhilídeos americanos, devido às reduções nos dígitos e fusões das vértebras. Discordando das propostas de Walker (1973), e corroborando com hipóteses prévias (Zweifel, 1986; Greenbaum, 2006), sugerimos *Syncope* Walker 1973 seja considerado sinônimo júnior de *Chiasmocleis* Méhely 1904.

6.1.1. Monofiletismo dos grupos filéticos de espécies da Mata

Atlântica

Os grupos filéticos propostos por Cruz *et al.* (1997) para as espécies de *Chiasmocleis* da Mata Atlântica relacionados com a presença ou ausência de membranas entre os artelhos não foram sustentados nesta análise. De fato, as espécies utilizadas na presente análise, e que correspondem ao grupo filético com artelhos providos de membranas (i.e., *C. capixaba*, *C. cordeiroi*, *C. leucostica* e *C. mantiqueira*), bem como os representantes do grupo filético sem membranas (i.e., *C. schubarti*, *C. alagoanus* e *C. carvalhoi*), não formaram grupos monofiléticos (Figura 28). Com o arranjo obtido na presente análise, não é possível estabelecer com clareza nenhum agrupamento biogeográfico monofilético dentro de *Chiasmocleis*.

6.1.2. Posicionamento de *Chiasmocleis* no clado americano

Van der Meijden *et al.* (2007) posicionaram o gênero *Chiasmocleis* na base da subfamília Gastrophryninae. Este resultado é discordante com a proposta apresentada aqui, onde o gênero *Chiasmocleis* está posicionado no clado mais derivado da irradiação americana (Figura 4). Nas propostas filogenéticas morfológicas de Zweifel (1986), Donnelly *et al.* (1990), Wu (1994) e Wild (1995), o gênero *Chiasmocleis* se posicionou nos ramos mais derivados (Figuras 1, 2). O posicionamento do gênero *Chiasmocleis* nas propostas morfológicas é sustentado pela presença de caracteres considerados derivados (Parker, 1934; Lynch, 1973; Zweifel, 1986), como a clavícula curta e curva, ausência de ossos do palatino e vômer posterior, redução do número de falanges e redução do tamanho corporal.

As diferenças encontradas no posicionamento de *Chiasmocleis* (basal ou derivado) na linhagem de microhilídeos americanos podem estar relacionadas à

composição dos táxons utilizados nas análises moleculares de Van der Meijden *et al.* (2007), que utilizou um extenso grupo externo, com representantes de todas as subfamílias de Microhylidae e não incluiu os táxons historicamente considerados basais na irradiação americana *Nelsonophryne* e *Ctenophryne*. Ao menos nove gêneros de microhilídeos americanos não estão presentes na matriz de Van der Meijden *et al.* (2007), dificultando a comparação dos arranjos encontrados na presente análise. A utilização de diferentes táxons no grupo externo influencia diretamente a polarização dos caracteres, alterando significativamente as possibilidades de arranjo entre os terminais (Farris, 1982).

6.2.Relação do gênero *Chiasmocleis* com os demais gêneros

americanos

Carvalho (1954) sugeriu que os gêneros *Hamptophryne* e *Arcovomer* seriam mais relacionados a *Chiasmocleis*. Esta hipótese não foi descartada por completo nas filogenias propostas por Zweifel (1986) e Donnelly *et al.* (1990). A topologia apresentada por Zweifel (1986) posiciona *Chiasmocleis* em uma politomia com os gêneros *Syncope*, *Hamptophryne*, *Arcovomer* e *Adelastes* (Figura 1), sustentados pela ausência da dobra occipital. A proposta de Donnelly *et al.* (1990) posiciona *Hamptophryne* como táxon irmão de *Chiasmocleis* (*Arcovomer* e *Adelastes* não foram incluídos). O relacionamento próximo de *Chiasmocleis* com *Hamptophryne* e/ou *Arcovomer* é descartado na presente análise. Wild (1995) ao utilizar a matriz de Zweifel (1986) e Donnelly *et al.* (1990) observou que Zweifel (1986) codificado erroneamente a ausência da dobra occipital para o gênero *Hamptophryne*. A recodificação deste caráter e o acréscimo dos caracteres larvais (Donnelly *et al.*, 1990), resultou no posicionamento de *Hamptophryne* como táxon irmão de *Stereocyclops* e *Hyophryne* (Figura 2).

Hamptophryne e *Arcovomer* compartilham outros caracteres plesiomórficos ausentes em *Chiasmocleis*, como o padrão de desenho dorsal (caráter 32.2), porção distal da clavícula curva (97.1), presença de ossos do palatino e vomer posterior (88.1; 89.1), arcada da maxila completa (apenas para *Hamptophryne* [80.2]). A presença destes caracteres e outros, e o relacionamento proposto aqui, sustentam o não agrupamento destes gêneros (*Hamptophryne* e *Arcovomer*) com *Chiasmocleis*.

A proposta de Wild (1995) posiciona o gênero *Adelastes* como táxon irmão de *Chiasmocleis* e este, por sua vez, é irmão de *Syncope* e *Arcovomer* (Figura 2). Devido à falta de material osteológico *Adelastes* não foi incluindo na presente análise, e o posicionamento deste gênero não pode ser testado. Em termos fenotípicos, *Adelastes* compartilha com *Chiasmocleis* a grande maioria dos seus caracteres de morfologia externa. A exceção ocorre na forma geral do corpo e dos membros, que é mais delgado e alongado em *Adelastes* (Zweifel, 1986). O tamanho dos dígitos em *Adelastes* é maior quando comparado aos padrões encontrados no gênero *Chiasmocleis* (Figuras 13 e 15), que tendem a ser menores e com a presença de fimbrias. O padrão dos dígitos encontrado em *Adelastes* é semelhante aos gêneros *Hypopachus*, *Nelsonophryne*, *Stereocyclops*, *Hamptophryne* e *Dermatonotus*.

Apesar do aspecto geral da morfologia externa de *Adelastes* ser similar à de *Chiasmocleis*, a osteologia encontrada em *Adelastes* é incomum, sendo constituída por um conjunto de caracteres não encontrados em nenhum outro microhilídeo (Zweifel, 1986). Como exemplo desta distinta osteologia, podem ser mencionadas a presença de um osso parahióide, a fusão dos frontoparietais e a fusão do esfenetmoide ao vomer. Zweifel (1986) aponta para uma semelhança da região palatal de *Adelastes* com a encontrada em *Synapturanus*: esfenetmoide como uma peça única fusionados ao vômer, e indistinguíveis da região anterior do paraesfenoide (Figura 24). A cintura escapular

com ausência de clavícula e procoracóide é outra estrutura que distancia fenotipicamente *Adelastes* de *Chiasmocleis*. Este tipo de cintura é compartilhada com *Synapturanus*, *Myersiella*, *Gastrophryne*, *Ctenophryne* e *Nelsonophryne*.

Dentre os gêneros historicamente propostos como relacionados a *Chiasmocleis*, apenas *Syncope* agrupou-se com este, sendo considerado aqui como um sinônimo júnior de *Chiasmocleis*. As hipóteses de parentesco direto entre *Chiasmocleis* com *Hamptophryne* e *Arcovomer* são refutadas na presente análise. O gênero monotípico *Adelastes* não pôde ser testado, porém sua osteologia peculiar sugere um posicionamento distante. De acordo com a topologia apresentada, *Elachistocleis*, *Relictivomer*, *Dasypops*, *Synapturanus* e *Myersiella* correspondem ao clado irmão de *Chiasmocleis*.

6.3. Variação Morfológica e Tendência Evolutiva na Irradiação dos Microhylídeos Americanos

Uma tendência evolutiva representa os padrões de seleção que ocorrem dentro de uma linhagem monofilética e podem ser ilustradas por uma série de transformações de um conjunto de caracteres ou estruturas (Lynch, 1971; Trueb, 1973). Dentre os padrões morfológicos descritos neste trabalho, foi possível observar, para algumas estruturas, uma série de transformações, a partir dos estados encontrados nos táxons basais até os estados presentes nos grupos mais derivados. Dentre esse conjunto de evidências, fica clara a tendência de redução dentro do gênero. Este processo e outras tendências observadas em algumas estruturas serão discutidos a seguir.

6.3.1. Cintura Escapular

A cintura escapular é considerada uma das estruturas mais importantes na classificação dos microhilídeos americanos (Parker, 1934; Carvalho, 1954, Zweifel, 1986). A variação desta estrutura dentro da irradiação americana pode ser observada na Figura 26. A diversidade de formas encontradas está relacionada há composição e desenvolvimento de seus elementos (clavícula, procoracóide, epicoracóide, coracóide, esterno e glenoide) e foi utilizada nos caracteres 93 ao 102. As formas consideradas mais complexas e completas apresentam clavículas desenvolvidas, perpendiculares a linha média da cintura, estendendo-se por todo o coracóide, articulando-se com glenoide (Figura 26 A). Este tipo de cintura é considerado por diversos autores como sendo o estado plesiomórfico (Parker, 1934; Carvalho, 1954, Zweifel, 1986; Lehr & trueb 2007). A otimização deste caráter na topologia (Figura 30), a cintura completa com clavícula alongada, não representa o estado plesiomórfico, pois os táxons basais apresentam cintura reduzida, com clavícula e procoracóides ausentes. Nos primeiro agrupamentos na base da árvore, os clados 68 (*Hyophryne*, *Stereocyclops ssp.*) e 66 (*Dermatonotus* e *Hypopachus*) apresentam cinturas completas com clavículas desenvolvidas (Figura 30). A partir do clado 44 ocorre redução no desenvolvimento da clavícula e esta passa a ser angulada em direção ao procoracóide, não alcançando a região da glenoide (Figuras 26 e 30). Entre os nós 44 ao 40, as espécies que apresentam clavícula tem região distal da clavícula curva e em contato com o coracóide (Figura 27 C, D; Figura 32). A partir do nó 40 a porção distal da clavícula é reta, não fazendo uma curva na linha do coracóide (Figura 32).

Ao compararmos o padrão de desenvolvimento descrito para *Hamptophryne boliviana* (Sá & Trueb 1991) observamos que o estágio inicial do desenvolvimento da cintura pélvica corresponde às formas encontradas nos adultos do gênero *Chiasmocleis*

(clado 40). O mesmo se aplica às espécies do gênero *Elachistocleis* e *Relictivover* (nó 69), que retêm o segundo estágio do desenvolvimento da cintura de *H. boliviana*. A retenção de caracteres pedomórficos, é indicada em alguns casos como uma consequência da miniaturização (Hanken, 1984, Hanken & Wakw, 1993). Embora para algumas estruturas, como o crânio, a retenção de estados pedomórficos, não apresenta relação com a miniaturização (Yeh, 2002). A tendência a redução corpórea presente nos microhylídeos americanos, parece exercer um importante papel seletivo, em algumas das modificações encontradas na cintura pélvica.

Infelizmente informações sobre os estágios de desenvolvimento de espécies com cinturas completas, não estão disponíveis. Com a obtenção destes dados será possível observar se o estágio inicial de desenvolvimento de uma cintura considerada desenvolvida representa o estado encontrado nos adultos de *Hamptophryne* ou em outro gênero. Caso isso se confirme fortalecem as evidências da retenção de estados pedomórficos, na série de transformação da cintura pélvica.

Outro processo interessante nos microhilídeos é a perda completa da de estruturas da cintura, como a clavícula e procoracóide (Figura 26 F). Assim como observado por Parker (1934) e Griffiths (1963) a perda desses elementos ocorre várias vezes na família Microhylidae. Na proposta filogenética para os gêneros americanos Assim como ilustrado por Zweifel (1986) a topologia encontrada para a irradiação de microhylídeos americanos, ocorre a perda independentemente da clavícula e coracóide em até quatro ramos 31, 20, 70 e 71 (Figura 31 e 32). Diferente das modificações do desenvolvimento, não foi identificado modificações cronológicas para a perda da clavícula e procoracóide.

A perda da função por pode ser um fator determinante para possibilitar a redução e/ou ausência de estruturas da cintura escapular (Emerson, 1984 Parker, 1934). Nos grupos de anuro com cintura do tipo aciferal, o suporte para manter o par de glenoides

separadas e firmes é feito pelas clavículas e procoracóides. Nos anuros com cintura do tipo firmisterna, que apresentam procoracóides e clavículas reduzidos, o maior desenvolvimento do par de coracóides, mantêm a forma e a rigidez da cintura, não afetando sua integridade estrutural (Emerson, 1984). Desta maneira o maior desenvolvimento dos coracóides possibilita que haja uma redução das clavículas, sem que seja perdida a rigidez e conseqüentemente a função da cintura (Emerson, 1984). Estes fatores podem ser determinantes na diminuição da pressão de seleção para a persistência deste elemento em microhylídeos, possibilitando a perda da clavícula e procoracóide de forma convergente em diferentes linhagens.

6.3.2. Coluna vertebral

Processos transversos posteriores mais curtos é considerado uma característica primitiva, presentes em famílias basais de Anura, Pelodytidae, Leiopelmatidae e Alytidae (Trueb, 1973; Lynch 1973). Trueb (1973) assume que animais terrestres tendem a equalizar o tamanho dos processos prolongando os processos transversos posteriores. No presente trabalho, o desenvolvimento dos processos transversos foi utilizado no caráter 107. Ao se otimizar o caráter 107 na topologia encontrada, é observado que o estado considerado por diversos autores como sendo o estado primitivo (processo transversal curto) está presente nos taxóons mais derivados. A partir do nó 45 (com uma reversão em *Hamptophryne boliviana*), os terminais apresentam claramente a redução do tamanho dos processos transversos.

A redução do número de vértebras está presente em ramos mais especializados de anuros, como Pipidae, alguns Bufonidae e Microhylidae (Trueb, 1973). A redução do número de vértebras pode ocorrer através de dois processos distintos. O primeiro é considerado o mais primitivo, e está relacionado à perda completa de um segmento

vertebral, com a incorporação das vértebras pré-sacrais ao sacrum. O segundo processo de redução, considerado o mais derivado, está atrelado a fusão das primeiras vértebras pré sacrais, sendo a forma típica de redução em espécies miniaturizadas (Trueb, 1973). Nos microhylídeos americanos, a fusão das duas primeiras vértebras pré sacrais pode ser completa ou parcial, e está presente em *Melanophryne carpish* e nas espécies do gênero *Syncope* (Walker 1973, Lehr & Trueb 2007). Segundo Zweifel (1986), este tipo de fusão aparece de maneira polimórfica em *Elachistocleis*.

A perda completa de um elemento vertebral é uma característica exclusiva de *Syncope*, decorrente da incorporação da vértebra IX ao sacrum transferindo a função sacral da vértebra IX para a vértebra VIII (Walker 1973, Trueb 1973). Dentre os gêneros que apresentam redução dos segmentos vertebrais *Syncope* pode ser considerado um extremo na pela ocorrência de ambos processos de redução das vértebras, primitivo e derivado.

6.3.3. Miniaturização

A tendência à redução do tamanho corpóreo na evolução dos anuros é um tema amplamente difundido, relacionado com o surgimento dos anfíbios atuais e sua diversificação. Uma das hipóteses acerca da origem das três ordens existentes de anfíbios está atrelada ao processo de miniaturização e à retenção de características pedomórficas dos Temnospondyli, um ancestral de grande porte (Bolt, 1977; Milner, 1988; Boy & Sues, 2000). Uma das características mais marcantes na família Microhylidae é a presença de processos de redução do tamanho e perda de estruturas ósseas, ocorrendo de forma independente nas diferentes subfamílias (Parker, 1928, 1934; Zweifel, 1986; Trueb, 1973; Wu, 1994).

A diversidade de microhilídeos encontrada no novo mundo apresenta gêneros de grande porte, com tamanho aproximado de 100 mm (*Dermatonotus*) até espécies extremamente reduzidas, com tamanho corporal de até 09 mm (*Syncope*). A hipótese de relacionamento encontrada na Figura 33 posiciona os gêneros de menor tamanho, nos ramos mais apicais. Isso fica evidente a partir do nó 43, que agrupa os gêneros de menor tamanho, como *Chiasmocleis*, *Syncope*, *Arcovomer*, *Elachistocleis*, *Gastrophryne*. O mesmo padrão ocorre na diversificação do gênero *Chiasmocleis*, com o posicionamento das menores espécies no clado 60, *C. jimi*, *C. hudsoni*, *C. magnova*, *Syncope antenori* e *S. carvalhoi*. Este último gênero representa o menor microhilídeo americano, e se posiciona como o táxon mais derivado.

Algumas vantagens potencialmente seletivas são indicadas como associadas à redução do tamanho, tais como, a fuga de predadores, exploração de diferentes recursos alimentares, o rápido alcance da maturidade reprodutiva e a ocupação física de ambientes reduzidos (Higgins & Thiel, 1988; Clarke 1996; Griffiths, 1990). Em geral o processo de miniaturização pode acarretar em alterações da morfologia, como a perda ou fusão de estruturas ósseas (Trueb & Alberch, 1985; Hanken & Wakw, 1993; Yeh, 2002) e a retenção de caracteres embrionários, ou estados juvenis nos adultos (Hanken, 1984; Hanken & Wakw, 1993; Yeh, 2002).

O processo de miniaturização não representa apenas um fator de pressão seletiva sobre a morfologia, o comportamento e a fisiologia do indivíduo ou de uma população, mas abarca também uma dimensão supraespecífica ao apresentar, em algumas linhagens, uma correlação positiva entre o tamanho reduzido e o aumento da diversidade (Dial & Marzluff, 1988). Mais de 60% da diversidade de Microhylidae do Novo Mundo está atrelada a um morfotipo reduzido, encontrado nos gêneros *Chiasmocleis* (25 ssp.), *Elachistocleis* (6 ssp.) *Syncope* (3 ssp.) e *Gastrophryne* (5 ssp.).

Já os morfotipos de grande porte não apresentam diversidade superior a duas espécies por gênero, como *Stereocyclops* (2 ssp.), *Dermatonotus* (1 sp.), *Dasylops* (1 sp.) e *Nelsonophryne* (2 ssp.).

7. Conclusões

- O gênero *Chiasmocleis* é parafilético em relação aos gêneros *Relictivomer*, *Elachistocleis*, *Dasypops*, *Synapturanus*, *Myersiella* e *Syncope*.
- No intuito de manter o monofiletismo do gênero *Chiasmocleis*, *C. panamensis* deve ser alocado em um novo gênero a ser definido posteriormente.
- No intuito de manter o monofiletismo do gênero *Chiasmocleis* Mehely 1904, o gênero *Syncope* Walker 1973 deve ser sinonimizado com *Chiasmocleis* Mehely 1904.
- O clado contendo *Elachistocleis*, *Relictivomer*, *Dasypops*, *Myersiella* e *Synapturanus* representa o grupo irmão do gênero *Chiasmocleis*.
- O gênero *Chiasmocleis* representa a irradiação mais derivada dentro dos microhylídeos americanos.
- Dentro da irradiação americana de microhylídeos, existe uma tendência à redução do tamanho corporal, sendo as espécies de menor tamanho os táxons mais derivados.

8. Resumo

Dentre os 20 gêneros de Microhylidae reconhecidos para o Novo Mundo, o gênero *Chiasmocleis* é considerado o mais diversificado, contendo 25 espécies amplamente distribuídas pela América do Sul ao leste dos Andes e ao sul da América Central. O gênero carece de uma análise filogenética que proponha uma hipótese de parentesco robusta entre a maioria das espécies, que teste objetivamente o seu monofiletismo e que o posicione dentro da irradiação de microhylídeos neotropicais. A análise comparada da morfologia de 18 espécies de *Chiasmocleis*, mais 19 espécies pertencentes a 15 gêneros de microhylídeos neotropicais resultou em uma matriz de 116 caracteres, 48 referentes à morfologia externa e 68 osteológicos. Através de uma análise cladística esta matriz foi analisada no programa TNT, resultando em duas árvores igualmente parcimoniosas, com 490 passos, índice de consistência 0.308 e índice retenção 0.562. O monofiletismo do gênero *Chiasmocleis* é rejeitado, com o gênero *Syncope* enraizando-se no ápice da linhagem formada pelas espécies do gênero *Chiasmocleis*. Além disso, *C. panamensis* não se agrupa com as demais espécies do gênero, se posicionando como o grupo-irmão do clado formado pelos gêneros *Relictivomer*, *Elachistocleis*, *Dasypops*, *Synapturanus*, *Myersiella* sendo este o clado irmão das demais espécies de *Chiasmocleis* mais *Syncope*. A topologia encontrada agrupa as espécies de menor tamanho, nos ramos mais derivados na irradiação americana de microhylídeos, sugerindo uma tendência evolutiva a redução do tamanho corporal. Embora não se tenha traçado um perfil geral das consequências da redução do tamanho no grupo, características da cintura escapular sugerem a retenção de estados pedomorficos nas espécies miniaturalizadas.

9. Abstract

Among the 20 recognized genera of the New World Microhylidae, *Chiasmocleis* is the most diverse, containing 25 species widely distributed throughout South America east of the Andes and south of Central America. The genus lacks a robust hypothesis of relationship between its species, and its monophyly has never been adequately tested. In this work a phylogenetic analysis is employed to specifically address those issues and to position *Chiasmocleis* among American microhylids. Comparative analysis of the morphology of 18 species of *Chiasmocleis*, and 19 species from 15 genera of Neotropical microhylids resulted in a matrix of 116 characters, 48 concerning the external morphology and 68 osteological. This matrix was analyzed in a cladistic framework with the program TNT, resulting in a single most parsimonious tree with 490 steps, consistency index 0.308 and retention index 0.562. The monophyly of the genus *Chiasmocleis* is rejected, with the genus *Syncope* rooting at the apex line formed by species of the genus *Chiasmocleis*. In addition, *C. panamensis* did not group with other species in the genus, and is positioned as the sister group to the clade formed by *Relictivomer*, *Elachistocleis*, *Dasypops*, *Synapturanus*, *Myersiella*, this clade being the sister group of the other species of *Chiasmocleis* plus *Syncope*. The topology found positioned the smaller species in the more derived branches, suggesting an evolutionary trend of reduction of body size in the new world microhylid lineage. Although the present work has not drawn a general profile of the consequences of miniaturization in the group, characteristics of the shoulder girdle suggest the retention of pedomorphic states in smaller species.

10. Figuras

Figura 1- Proposta de relacionamento de Zweifel (1986) com oito caracteres. Números correspondem aos caracteres e as letras aos estados. “?” corresponde a estado indefinido.

Figura 2- Proposta de relacionamento filogenético de Wild (1995), com oito caracteres de Zweifel (1986) e seis de Donnely *et al.* (1990). Números correspondem aos ramos.

Fig. 61. Part 6 of anurans from the general tree (fig. 50 [insert]): Microhylidae.

Figura 3- Trecho da árvore filogenética de Frost *et al.* (2006) onde localiza-se Microhylidae. Números correspondem aos ramos.

Figura 4- Proposta de relacionamento filogenético por análise molecular de Microhylidae de Van der Meijden *et al.* (2007). Números correspondem ao suporte por bootstrap da análise por máxima verossimilhança, e entre parênteses o suporte por bootstrap da análise por parcimônia quando menor que 100%. Um asterisco corresponde a probabilidade bayesiana maior que 0,95; dois asteriscos correspondem a probabilidade bayesiana de 1,00.

Figura 5- Proposta filogenética molecular de Greenbaum (2006). Números correspondem a valores de bootstrap > 50%.

Figura 6 – Áreas biogeográficas identificadas para o gênero *Chiasmocleis*

Figura 7 – Distribuição das espécies de *Chiasmocleis*, com ocorrência Amazônica

Figura 8 – Distribuição das espécies de *Chiasmocleis*, com ocorrência na Mata Atlântica

Figura 9 – Distribuição das espécies de *Chiasmocleis*, com ocorrência nas áreas de vegetação aberta da America do Sul.

Figura 10 – Fotografia do crânio de *Chiasmocleis albopunctata* **A** - vista dorsal; **B** – vista ventral; **C** e **D** desenho esquemático do crânio de *Chiasmocleis hudsoni* (**C** - vista dorsal; **D** – vista ventral). Região rachurada de cinza representa cartilagem. An , anel timpânico; Coa , côana; Cp , crista parótica; Esf , esfenetímóide; Esq , esquamosal; Exoc , exoccipital; Fp , frontoparietal; Nasal , nasal; Max , maxila; Op , opérculo; PaEsf , paraesfenóide; Pit , piterigóide; Pq , palato quadrado; Premax , pré-maxila; PreNas , pré nasal; Pro, prootico; Proc , procoracóide; Qj , quadradojugal ; Sep max , septo maxilar; Vo , vômer

Figura 11- Padrão ventral com manchas brancas de *Chiasmocleis albopunctata*. A fêmea; B macho com gula enegrecida.

Figura 12 – Diferenças no desenvolvimento das membranas inter digitais de *Chiasmocleis avilapiresae*. **A**- fêmea; **B**- macho.

Figura 13- Variação da membrana interdigital entre os dedos. **A**- *Chiasmocleis mantiqueira*; **B**- *Chiasmocleis cordeiroi*.

Figura 14- Desenvolvimento de membranas inter digitais nos artelhos de machos de *Chiasmocleis*. **A-** *Chiasmocleis albopunctata*; **B-** *C. crucius*; **C-** *C. avilapiresae*; **D-** *C. mantiqueira*. Barra representa 5 mm

Figura 15 – Variação no comprimento dos dedos da mão, ilustrando tendência de redução dos dedos I e IV. **A-** *Chiasmocleis jimi*; **B-** *C. magnova*; **C** – *Syncope antenori*; **D-** *Syncope carvalhoi*.

Figura 16 – Espículas dérmicas. **A** Espinhos dérmicos concentrados na região gular de *Chiasmocleis schubarti*. Barra preta representa 2 mm. **B** -Espinhas dérmicas presente nos dígitos de *Chiasmocleis schubarti*. Barra branca preta 3 mm.

Figura 17 – Padrão de colorido dorsal nas espécies de *Chiasmocleis*. **A**- *Chiasmocleis panamensis*, com desenho dorsal; **B**- *C. albopunctata*, com manchas definidas; **C** – *C. schubarti*, padrão liso; **D** – *C. bassleri*, dorso liso e mancha inguinal.

Figura 18 – Padrão de colorido ventral nas espécies de *Chiasmocoleis*. **A**- *Chiasmocoleis supersilialbus*, macho; **B**- *C. leucosticta*, fêmea; **C** – *C. jimi*, fêmea; **D** – *C. mantiqueira*, macho. Barras brancas representam 5 mm.

Figura 19 – Padrão dorsal de *Chiasmocleis capixaba*, setas indicam as linhas corporais dorsal e femoral. Barra preta representa 5 mm.

Figura 20 – Região da cavidade bucal de *Relictivomer pearsei*, setas evidenciam as dobras dérmicas, anterior e posterior.

Figura 21 – Forma do processo apical do nasal. **A** *Dermatonotus muelleri*; **B** *Stereocyclops incrassatus*.

Figura 22- Vista ventral do crânio: **A-** *Dermatonotus muelleri*; **B** *Stereocyclops incrassatus*. Max , maxila; PaEsf , paraesfenóide; PreMax , pré-maxila; Qj , quadradojugal, Pq, palatoquadrado.

Figura 23 – Região anterior do crânio em vista ventral. A - *Stereocyclops incrassatus* ; B – *Ctenophryne geayi*; C – *Chiasmocleis shudikarensis*; D – *C. albopunctata*. Coa , côana; Esf , Esfenetímóide; Max , maxila; PaEsf , paraesfenóide; Pal – Palatino; PreMax , pré-maxila; Vo , vômer; Vop , vômer posterior

Figura 24- Região da maxiva e pré-maxila em vista ventral de *Synapturanus mirandaribeiroi*. Observar o posicionamento não alinhado entre pré-maxila e maxila.

Figura 25. Padrão das vértebras e orientação dos processos transversos das vértebras pré-sacrais. **A** vértebras I a IV de *Chiasmcoleis ventrimaculata*, com a presença do espinho no processo transverso da terceira vértebra pré-sacral, indicado pela seta; **B** vértebras VI a sacral de *C. hudsoni*, processos transversos laterais; **C** vértebras V a sacral de *C. shudikarensis*, processos transversos direcionados para lateral e anterior; **D** - vértebras V a sacral de *C. albopunctata*, processos transversos direcionados para região anterior.

Figura 26 – Padrão da cintura escapular: **A** - *Stereocyclops incrassatus*; **B** – *Dasypops schirchi*; **C** – *Hamptophryne boliviana*; **D** – *Elachistocleis bicolor*; **E** – *Chiasmcoleis shudikarensis*; **F** – *Ctenophryne geayi*. Calv, clavícula; Cor ,coracóide; Epi , epicoracóide; Est , esterno; Gle , glenóide; Proc , procoracóide

Figura 27 – Perda da ligação entre epicoracóide e procoracóide, no grupo mais derivado de microhylídeos americanos: A – *Chiasmcoleis shudikarensis*; B – *Chiasmcoleis magnova*; C – *Syncope antenori*.

Figura 28 – Única árvore mais parcimoniosa resultante da análise cladística de 37 táxons terminais e 116 caracteres morfológicos (490 passos; índice de consistência = 0.308; índice de retenção = 0.562). Valores representam os números dos ramos

Figura 29 – Árvore mais parcimoniosa resultante da análise cladística de 37 táxons terminais e 116 caracteres morfológicos. Números nos ramos representam o valor do suporte de Bremer.

Figura 30 – Árvore mais parcimoniosa resultante da análise cladística de 37 táxons terminais e 116 caracteres morfológicos. Sinapomorfias indicadas nos ramos, com o número do caráter acima. Círculo branco representa sinapomorfia homoplástica e círculo negro, sinapomorfia exclusiva.

Figura 31 Diagrama ilustrando a evolução do desenvolvimento da clavícula, dentro da irradiação americana da família Microhylidae.

Figura 32- Diagrama ilustrando a evolução do desenvolvimento da região distal da clavícula, dentro da irradiação americana da família Microhylidae.

Figura 33- Diagrama ilustrando a evolução do tamanho corporal, dentro da irradiação americana da família Microhylidae. Os táxons estão representados pela proporção real das espécies.

11. Anexo I.-

Lista do material utilizado para análise da morfologia externa.

Chiasmocleis mantiqueira: CFBH 24135;

Chiasmocleis panamensis: KU 116500;

Chiasmocleis schubarti: MZUSP 85346, 85350, 85342, MNRJ 17543, 22961;

Chiasmocleis shudikarensis: MZUSP 60038;

Chiasmocleis supersiliabus: MZUSP 129455;

Chiasmocleis ventrimaculata: KU 215540;

Ctenophryne geayi: MZUSP 82248, 82241, 82222;

Dasypops schirchi: MZUSP 82829;

Dermatonotus muelleri: MZUSP 100998, 100987;

Elachistocleis bicolor: MZUSP 16538, 16544;

Gastrophryne carolinensis: MNHN 231019;

Gastrophryne elegans: MZUSP não incorporado;

Hamptophryne boliviana: MZUSP 36462, 36458, 36465;

Hyophryne histrio: MZUSP 138153, 138154;

Hypopachus variolosus: MZUSP 77596;

Myersiella microps: MZUSP 82073;

Nelsonophryne aequatorialis: MNRJ 59150;

Nelsonophryne aterrima: MNRJ 59150;

Relictivomer pearsei: AMNH 69881;

Stereocyclops incrassatus: MZUSP 138101, 138108;

Stereocyclops parkeri: MNRJ 54021;

Synapturanus mirandaribeiroi: AMNH 90936;

Syncope antenori: UFAC 816.

12. Anexo II.

Lista do material utilizado para análise osteológica.

Arcovomer passareli: MZUSP 82079-88;
Chiasmocleis alagoanus: MNRJ 21856-21862, MZUSP Field 2682-83;
Chiasmocleis albopunctata: MZUSP - 9881-40, 122717-30;
Chiasmocleis bassleri: AMNH 42699, 96399; MZUSP 82298, 82319; 332461;
Chiasmocleis capixaba: MNRJ 17515-29;
Chiasmocleis carvalhoi: MNRJ 17480-04, MZUSP 82852-58, 82529-32;
Chiasmocleis cordeiroi: MNRJ 35364;
Chiasmocleis hudsoni: MAD 116, 2067, 1475-79, 1481-87, 1489-97;
Chiasmocleis jimi: MZUSP 53981-88, 140138-41;
Chiasmocleis leucosticta: MZUSP 135620-22, 135634-44, 136050-59;
Chiasmocleis magnova: AMNH 96398, 103550;
Chiasmocleis mantiqueira: MNRJ 43407, 41671-41674;
Chiasmocleis mehelyi: MZUSP 65102-05;
Chiasmocleis panamensis: AMNH 52741, 53764, NMNH 193344;
Chiasmocleis schubarti: MZUSP 85283-54;
Chiasmocleis shudikarensis: MZUSP 60035-63, AMNH 43674; NMNH 566224;
Chiasmocleis supersiliabus: MZUSP 129457, MZUSP 63829-31;
Chiasmocleis ventrimaculata: MZUSP 30592, 36430, NMNH 343033, 345292, 343266-68;
Ctenophryne geayi: MZUSP não incorporado;
Dasylops schirchi: MZUSP 84396-29;
Dermatonotus muelleri: MZUSP 100978-12, 48838-90;
Elachistocleis bicolor: MZUSP 16519-52;
Gastrophryne carolinensis: MZUSP 82340, 5184-86;
Gastrophryne elegans: MZUSP 14406-11;
Hamptophryne boliviana: MZUSP 36435-63;
Hyophryne histrio: MZUSP 132328-36;
Hypopachus variolosus: MZUSP 77593-95, NMNH 77259, 77590-92;
Myersiella microps: MZUSP 136674-88;
Nelsonophryne aterrima: MZUSP 82129;

Nelsonophryne aequatorialis: MZUSP 82126-28;

Relictivomer pearsei: MZUSP 82107-08;

Stereocyclops parkeri: MZUSP 82146-52;

Stereocyclops incrassatus: MZUSP 138090-121;

Synapturanus mirandaribeiroi: MZUSP 58670, 57371, 50167, 59561;

Syncope antenori: NMNH 538246-50, UFACF 850, 816;

Syncope carvalhoi: NMNH 521024, AMNH 96401.

13. Anexo III.

Material analisado para a confecção dos mapas.

Chiasmocleis alagoanus: Brasil. Alagoas. Mata do Catolé: MNRJ21856. Mata do Cedro: MNRJ 21858

Chiasmocleis albopunctata: Paraguai. Amambay. Pedro Juan Caballero: MNHN126496. Brasil. Distrito Federal. Brasília: CHUNB 43299, DZSJRP 1857. Goiás. Arraias: MNRJ 17859. Colinas do Sul: CHUNB 44707. Luziânia: CHUNB 38689. Minaçu: MZUSP 130610. Mineiros: CHUNB 15324. Buritizinho: MZUFV6484. Paraúna: MNRJ 48582. Petrolina de Goiás: MZUSP 126712. Pires do Rio: CHUNB 38690, MZUFV6518. Rio Verde: CHUNB 49437. São Domingos: CHUNB 35565. Três Ranchos: CHUNB 44738. UHE Serra da Mesa: MZUSP 72354, MZUSP 89408. Minas Gerais. Cristália: MNRJ 17027. Paracatu: MNRJ 37067. Uberlândia: MNRJ 17326. Mato Grosso do Sul. Aquidauana: MNRJ 17858. UHE Sergio Motta: MZUSP 96884. Mato Grosso. Carandasinho: MZUSP *não incorporado*. Chapada dos Guimarães: CFBH 14393. Pindaíba. MZUSP 90906. Porto Estrela: MZUSP 133007. Tesouro: MZUSP *não incorporado*. UHE Manso: MZUSP 98881. Pará. Tucuruí: MZUSP 82135. São Paulo. Botucatu: MNRJ 16624. Brotas: CFBH 9837. Buri: MZUSP 134880. Onda Verde: DZSJRP 11384. Pedregulho CFBH 13999. Perus: MZUSP 924. Rio Claro: CFBH 5654. Teodoro Sampaio: CFBH 12084, DZSJRP 11456. Tocantins. Babaçulândia: MZUSP 126996. Caseara: CHUNB 45602. Guaraí: MZUSP 127128. Ipequeiras: MZUSP 127322. Palmas. CHUNB 25083, MZUSP 90164. Paranã: MZUSP 111685. Peixe: MZUSP 122717. Porto Nacional: CHUNB 15322. UHE Eduardo Magalhães: MZUSP 137810.

Chiasmocleis atlantica: Brasil. Rio de Janeiro. Nova Iguaçu: MNRJ 17550, MNRJ 17551. São Paulo. Ubatuba: MZUSP 134117, 70745.

Chiasmocleis bassleri: Brasil. Mato Grosso. Jacareacanga: MZUSP *não incorporado*, MZUSP *não incorporado*. Paranaíta: MZUSP *não incorporado*, MZUSP *não incorporado*. Rondônia. Espigão D'Oeste: CFBH 5134. Montenegro/Cacaulândia: MZUSP 123552. Nova Brasília: NMNH 284499. Porto Velho: MZUSP 129455. UHE Samuel MZUSP 82520. Colombia. Amazonas. Leticia: ICN 50213. Caquetá. Puerto Abeja: ICN 42731. Guaviare. Cerca de la boca del río Ariari: ICN 42732. Vaupés.

Taraira: ICN 50202. ICN 36458. Equador. Napo. MZUSP 82319. Pastaza. MZUSP 82298. Peru Madre De Dios Rio Tambopata NMNH 332461.

Chiasmocleis capixaba: Brasil. Bahia. Nova Viçosa: MNRJ 18924. Espírito Santo. Aracruz: CFBH 2668, 2701. Cariacica: MNRJ 27907. Linhares: CFBH 9970, MNRJ 22962, 29058.

Chiasmocleis carvalhoi: Brasil. Bahia. Porto Seguro: MNRJ 28957, MZUSP 126379. Una MNRJ 28606. Espírito Santo. Guarapari: MZUSP 13159. Rio de Janeiro. Angra dos Reis: CFBH 5773. Arraial do Cabo MNRJ 17555. Barro Branco: MZUSP 9886. Cachoeira do Macacu: MNRJ 38105. Duque de Caxias: MNRJ 17566, 17568. Itaguaí: CFBH 128, MZUSP 82300. Macaé MNRJ 47377, Niteroi: MNRJ 17577. Seropédica: CFBH 10754, MNRJ 17505. São Paulo. Bertioga: MZUSP 136256. Ilha Bela: CFBH 17495. Ubatuba CFBH 1057, 12945, 13087, 4262.

Chiasmocleis centralis: Brasil. Goiás. Aruanã: MZUSP 7547, 7548. Cana Brava: MZUSP 12573.

Chiasmocleis cordeiroi: Brasil. Bahia. Camamu: MNRJ 29931. Itacaré: MNRJ 35382.

Chiasmocleis crucis: Brasil. Bahia. Camamu: MNRJ 29933, 29934.

Chiasmocleis gnoma: Brasil. Bahia. Porto Seguro: MZUSP 126382. Una MNRJ 28628.

Chiasmocleis hudsoni: Brasil. Amazonas. Balbina: MZUSP 82486. Pará. Reserva Biologica do Rio Trombetas: MZUSP 79719. Rondônia. UHE Samuel: MZUSP 82347. Porto Velho: CFBH 538.

Chiasmocleis jimi: Brasil. Amazonas. Humaita: MZUSP 53981. Pará. Uruá: MZUSP 140138.

Chiasmocleis leucosticta: Brasil. Paraná. São José dos Pinhais: DZSJRP 6303. Santa Catarina. Corupá. MNRJ 525. Florianopolis: MZUSP 139417. Santa Luzia: MNRJ 17563. São Bento do Sul: MNRJ 44451. São Paulo. Barra do Turvo: MZUSP 135906. Bertioga: MZUSP 134741. Cotia: MZUSP 138360. Diadema: MNRJ 17564. Eldorado Paulista: MZUSP 135620. Fazenda Intervalos: MZUSP 129885. Jureia: MZUSP 93109. Piedade: MZUSP 123499. São Miguel Arcanjo: MZUSP 136050. São Sebastião: MZUSP 9033.

Chiasmocleis mantiqueira: Brasil. Minas Gerais. Ervália: MNRJ 43407. São Paulo. Campos do Jordão: MZUSP não incorporado. Serra da Bocaina MZUSP 79091.

Chiasmocleis mehelyi: Brasil. Mato Grosso do Sul. Corumbá: CFBH 4357. Miranda: MZUSP 65102, 9887. Mato Grosso. Poconé: MNRJ 17076.

Chiasmocleis panamensis: Colombia. Atlántico. Baranoa Mhua: 49061. Juan De Acosta: MHUA 49060. Tubará: MHUA 49062. Bolívar. Zambrano MHUA 50104. Boyacá Puerto Boyacá MHUA 44699. Caldas Samaná. MHUA 34933. Cauca: MHUA 42. Córdoba. Loricá: MHUA 48708. Montería: MHUA 48687. La Loma: MHUA 3127, 4741. Puerto Triunfo: MHUA 4533. Sucre San Marcos: MHUA 49343. Troncosito: MHUA 3529. Panama. Cidade Do Panama: MZUSP 82324. Cocoli: MNHN 193344.

Chiasmocleis sapiranga: Brasil. Bahia. Reserva de Sapiranga: MNRJ 4986.

Chiasmocleis schubarti: Brasil. Bahia. Guaratinga: MNRJ 29773. Porto Seguro: MNRJ 27256. MNRJ 38864. Prado: MNRJ 28907. Una: MNRJ 28585. Uruçua: MNRJ 33837. Valença: MNRJ 40195. Espírito Santo. Aracruz: MNRJ 17538. Linhares MNRJ 17548, 22959, 39759, 47462, MZUSP 2309. Soretama: MZUSP 76388. Minas Gerais. Marliéria: MNRJ 17883.

Chiasmocleis shudikarensis: Brasil. Amazonas. Reserva INPA-WWF: MZUSP 57366. Mato Grosso. Aripuanã: MZUFV7450. Colider: MZUSP *não incorporado*. Paranaita: MZUSP *não incorporado*. Pará. Serra de Kukoinhokren: MZUSP 69910. Rondônia. Cachoeira de Nazaré: MZUSP 63830. Igarapé Marmelo: MZUSP 76342. Montenegro: MZUSP 123551.

Chiasmocleis ventrimaculata: Colombia. Amazonas. Leticia: ICN 50247. Parque Nacional Natural Amacayacu: ICN 13957. Ecuador. Morona-Santiago. Miazal: MNHN 236949. Peru. Loreto Estirón. Rio Ampyiacu: MZUSP 30592. Madre de Dios Manu: MNHN 342660.

14. Anexo IV

Matriz de caracteres

A seguir é apresentada a matriz produzida no TNT, composta por 116 caracteres e 37 táxons terminais.

```
xread
116 37
Nelsonophryne_aequatorialis
    1100[0 1]10020000100001?111??1111011[1
3]0001202?0?00000001000101010110[1
2]0011001111110112?10010010?100???0?11-10100100010011
Chiasmocleis_albopunctata
    00001110110021000010111000011001200000-0000000001000100011001[0
1]010010001020110101100010000?02110101100110000100000011
Chiasmocleis_alagoanus
    00000100100021000010110100010?0100002023000000010002000111011020
010001020110101110010000-02110101100110000100010011
Chiasmocleis_avilapirese
    2100110010002100101[0 1]111020[0 1]11000300[0 1]01021000000000[0
1]02000111010000010001010110101100100000?02110101100110000100110000
Chiasmocleis_superciliarbus
    0000111100112100101011000001110030210100100101001000000011101101
1010001010110011100210000-02110101100110000100110000
Chiasmocleis_bassleri
    00001100000121001010110000011100302101001001000010001000101???011
010001010110101010010000?0211010110011000000?110200
Chiasmocleis_capixaba
    2100110010102100001[0
1]111000011100000001023220000010000100110011020010001010110101110110000
?02110101100110000100010010
Chiasmocleis_carvalhoi
    0000110010102100101[0 1]11111001110000000202300000001000110011[0
1]011000010001010110101110110000-02110101100110100100010000
Chiasmocleis_cordeiroi
    2100110010102100001011110001100010000?0???0000010002000110011001
011001020110101110010000-02110101100110000100010001
Chiasmocleis_hudsoni
    0000110000002100100-110010011000000010-
00000000000002000101011011110001010112101010210000-02110[0 1]01100210[0
1]00100110000
Chiasmocleis_jimi
    0000110000002100100-110010011000000010-
00000000000002000101011011010001010111101010210000-02110[0
1]01100210100100110000
Chiasmocleis_leucosticta
```


2111110000102100001[0 1]111000[0 1]11000[1 3]00[0 1]01011220000000[0
 1]00100110[0 1]1[0 1]000010001010110101000110000-
 02110101100110000100000000
Chiasmocleis_magnova
 0000111100?[1 2]0000121[2 3]????00110000000?0-00000[0
 1]?0010100100?010110001?0001010110101010210000-
 02110001?00010100000111111
Chiasmocleis_mantiqueira
 22111100001?2100001[0
 1]111000011000300111021000000010000000111111030011001010110101000010000
 -02110101100110100100010001
Chiasmocleis_mehelii
 0000111011002100001011111000100120000????00000????00????????01
 ?001????11?1?1??????00?021101011001?0????0??????
Chiasmocleis_panamensis
 000000001000210000101????0111102[1
 2]00002022000001110001000101011120010001220210100?001[0 1]0000-
 02110111100110000000010000
Chiasmocleis_schubarti
 10001100100?2100001[0 1]111120[0
 1]11000100001021000000010000000110011000010001010110101100[0 2]10000-
 02110101100110000100000001
Chiasmocleis_ventrimaculata
 1000110010002100001??11110011000[1
 3]0000???1??0000010101000110???020010001010110101110110000-
 0211010110011010010?010000
Chiasmocleis_shudikarensis
 2100110010102100101[0 1]111020011000300[0
 1]01021221000000001000111010020010001020110101010110000?021101011001100
 00100010011
Arcovomer_passarellii
 0000000010102100111[0
 3]11000001100210001000?0010200100000001010111001?0001110110001100110011
 002110011300110000000010000
Ctenophryne_geayi
 2200110010001101101011001111101021210202?2?0010000000000101011021
 010111211000012?10211000?100????0?11-10011001110011
Dasypops_schirchri
 11001110100121000010101010111002[0
 1]001020230000100100101010110100?0010011???110101000200100?021110110101
 10110011110100
Dermatonotus_muelleri
 0000111020012100001[0 1]110120111101[1 2]00000--?-
 00010000101111110011020010011211211012?00001100?02121021010110010001110
 001
Snapturanus_incrassatus
 1100110020002101001011012011111201[1
 2]0?210?000010000010010101010020010110211000002020011011011121021320110
 011001110011
Stereocyclops_parkeri

1100110020002101001011012011111211[1
2]0?210???0010000?10?101?1???????1?110?1100?002?????1?11?111210?1320110??1
001110011

Hypopachus_variolosus

2100110020102111001011112011110[0 1][0
1]00002020?1000000001011?1101102001011111110012?00111000?021210210101
10010001110001

Elachistocleis_bicolor

000000001000210000101000101111000010010210?0001110011100111011020
010011120212001121000000?02100111000110000010010011

Gastrophryne_caroliensis

00000000100021000010110000111102100000-
000000000?0100000?1?????????0?12102100031?0010?00?020?????0?0100000010001
????

Gastrophryne_elegans

00000100101021011010110010111102300100-
000010000?0101000111010001010001210210101100010000?000????0?01-
10000100010000

Hamptophryne_boliviana

0000001020002100111011012011110211110201?1?1000000100000101011020
110101210111012?101110[0 1][0 1]102110111300110011001110011

Hyophryne_histrio

2200110010001101101?11112011111221210202?0?0010000010010100001011
010100111000002?2021100101112[0 1]021[1 3]20110011001110011

Nelsonophryne_aterima

0000[0 1]1002000[0 1]100001?1????1111010000010--?-
00000001000000101001020010001111110012?10210010?100????0?11-
10010101010011

Relictivomer_pearsei

0000000010002100001011111011110010000?-
010?0001100011100111???1???1?0111101?2101010?0??0[0
1]?02100101000110000010010011

Myersiella_microps

000011001001[1 2]1000000000000111100100010--?-
00000000111100011010010010001000110001121100000?020????0?01-10110[0
1]01010011

Snapturanus_mirandaribeiroi

000011001002000000000000000111110000000-----
0110010111000011???????1?001120112001121200010?020????0?0?-[0
1]001000011????

Syncope_antenori

0000011100120000120-0---
00001000000010?000001?0000000000101011000110001000110101010200000?02110
101100011100000011200

Syncope_carvalhoi

0000011100120000220??0000?000010[0 1]00??0?00000[0
1]?00???????0?10011?1?1?????????????1?00?1?0?0?021?0?01?0011100?00011100

;

15. Referências Bibliográficas

- Barriel, V. & Tassy, P. 1993. Characters, observations and steps: comment on Lipscomb's "parsimony, homology and the analysis of multistate characters". *Cladistics*, 9: 223-232.
- Bokermann, W. C. A. 1952. Microhylidae da coleção do Departamento de Zoologia (Amphibia-Anura). *Papéis Avulsos de Departamento de Agricultura*, v.10, n. 16, p. 271-292.
- Bolt, J. R. 1977. Dissorophoid relationships and ontogeny, and the origin of the Lissamphibia. *Journal of Paleontology*, v. 51, p.235–249.
- Boy, J. A. & Sues, H. D. 2000. Branchiosaurs: larvae, metamorphosis metamorphosis, and heterochrony in temnospondyl and seymouriamorph amphibians. Pp. 1150–1197 in H. Heatwole and R. L. Carroll, eds. *Amphibian biology. Vol. 4. Paleontology*. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, New South Wales, Australia.
- Brasileiro, C.A.; Sawaya, R.J.; Kiefer, M.C. & Martins, M. 2005. Amphibians of an Open Cerrado Fragment In Southeastern Brazil. *Biota Neotropica* .v. 5, n. 2, p. 97-109.
- Campbell, J. A. & Frost, D. R. 1993. Anguid lizards of the genus *Abronia*: revisionary notes, descriptions of four new species, a phylogenetic analysis, and key. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 216, p. 1-121.
- Canedo, C.; Dixo, M. & Pombal, J. P. 2004. A New species of *Chiasmocleis* Méhely, 1904 (Anura, Microhylidae) From the Atlantic Rainforest of Bahia, Brazil. *Herpetologica*, v.60, n. 4, p.495-501.
- Caramaschi, U. & Cruz, C.A.G. 1997. Redescription of *Chiasmocleis albopunctata* (Boettger) and description of a new species of *Chiasmocleis* (Anura: Microhylidae). *Herpetologica*, v.53, p.259–268.
- Caramaschi, U. & Cruz, C. A. G. 2001. A new species of *Chiasmocleis* Méhely, 1904 from Brazilian Amazonia (Amphibia, Anura, Microhylidae). *Boletim do Museu Nacional (N.S.) Zoologia*, n. 469, p.1–8.
- Caramaschi, U. & Pimenta, B. V. S. 2003. Duas novas espécies de *Chiasmocleis* Méhely, 1904 da Mata Atlântica do Sul da Bahia, Brasil (Amphibia, Anura, Microhylidae). *Arquivos do Museu Nacional*, v. 61, p.195–202.

- Carvalho, A. L. 1954. A preliminary synopsis of the genera of american microhylid frogs. *Occasional Papers of the Museum of Zoology, University of Michigan* 555: 1-19.
- Clarke, B. T. 1996. Small size in amphibians: its ecological and evolutionary implications. *Symposium on Zoological Society of London*, v.69, p.201–224.
- Cruz, C. A. G.; Caramaschi, U. & Izecksohn, E. 1997. The genus *Chiasmocleis* Méhely, 1904 (Anura, Microhylidae) in the Atlantic Rain Forest of Brazil, with description of three new species. *Alytes*, v.15, p. 49–71.
- Cruz, C. A. G.; Caramaschi, U. & Freire, E. M. X. 1999. Occurrence of the genus *Chiasmocleis* (Anura: Microhylidae) in the State of Alagoas, north-eastern Brazil, with a description of a new species. *Journal of Zoology*, London, v. 249, p.123–126.
- De La Riva, I.; Köhler, J.; Lötters, S. & Reichle, S. 2000. Ten years of research on Bolivian amphibians: updated checklist, distribution, taxonomic problems, literature and iconography. *Revista Española de Herpetología*, v.14, p. 19-164.
- De Sá, R.O. & Trueb, L. 1991. Osteology, skeletal development, and chondrocranial structure of *Hamptophryne boliviana* (Anura: Microhylidae). *Journal of Morphology*, v. 209, p. 311-330.
- Dial, K. P. & Marzluff, J. M. 1988. Are the smallest organisms the most diverse? *Ecology*, v.69:1620–1624.
- Donnelly, M. A.; De Sá, R. O. & Guyer, C. 1990. Description of the tadpoles of *Gastrophryne pictiventris* and *Nelsonophryne aterrima* (Anura: Microhylidae), with a review of morphological variation in free-swimming Microhylid larvae. *American Museum Novitates*, n. 2976, p.1-19.
- Duellman, W. E. 2005. *Cusco Amazónico, the lives of amphibian and reptiles in an Amazonian rainforest*. Cornell University Press, Ithaca.
- Duellman, W. E. & Mendelson, J. (1995): Amphibians and reptiles from northern Departamento Loreto, Peru: Taxonomy and biogeography. *University of Kansas. Science Bulletin*, v.55, p. 329-376.
- Duellman, W. E. & Trueb, L. 1986. *Biology of Amphibians*. Hightstown, N.J., USA; London, England.
- Dunn, E.R. 1949. Notes on South American frogs of the family Microhylidae. *American Museum Novitates*, n.1419, p.1–21.

- Dunn, E. R.; Trapido, H. & Evans, H. 1948. A new species of the microhylid frog genus *Chiasmocleis* from Panama. *American Museum Novitates*, n. 1376, p. 1-8.
- Emerson, S.B. 1971. *The fossorial frog adaptive zone: a study of convergence and parallelism in the Anura*. University of South California, Los Angeles. (Ph. D)
- Emerson, S. B. 1984. Morphological variation in frog pectoral girdle: testing alternatives to a traditional adaptive explanation. *Evolution*, v.38, n.2, p. 376-388.
- Farris, J. S. 1970. Methods for computing Wagner trees. *Systematic Zoology*, v. 19, p. 83-92.
- Farris, J. S. 1982. Outgroups and parsimony. *Systematic Zoology*, v.31, p. 328-334.
- Ford, L. S. 1990. *The Phylogenetic Position of Poison-dart Frogs (Dendrobatidae): Reassessment of the Neobatrachian Phylogeny with Comments on Complex Character Systems*. University of Kansas, Lawrence. (Ph.D.)
- Frost, D.R. 2010. *Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 5.4*. American Museum of Natural History, New York. Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/>. (last access in 02/09/2010).
- Frost, D. R.; Grant, T.; Faivovich, J.; Bain, R. H.; Haas, A.; Haddad, C.F.B.; De Sá, R. O.; Channing, A.; Wilkinson, M.; Donnellan, S. C.; Raxworthy, C. J.; Campbell, J. A.; Blotto, B. L.; Moler, P.; Drewes, R. C.; Nussbaum, R. A.; Lynch, J. D.; Green, D. M. & Wheeler, W. C. 2006. The Amphibian Tree of Life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v.297, p. 1-370.
- Glaw, F & Vences, M. 2003. *AmphibiaWeb: Information on amphibian biology and conservation*. Berkeley, California: AmphibiaWeb. Available: <http://amphibiaweb.org/>. Acessado em 2009.
- Gilbert, C. C.; Frost, S. R. & Strait, D. S. 2009. Allometry, sexual dimorphism, and phylogeny: A cladistic analysis of extant African papilionins using craniodental data. *Journal of Human Evolution*, v.57, p.298–320.
- Goloboff, P. A.; Farris, J. S. & Nixon, K. C. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, v.24, p. 774-786.
- Gordo, M. & Campos, Z. 2003. Listagem de anuros da Estação Ecológica Nhumirim e arredores, Pantanal Sul. *Documentos. Embrapa Pantanal, Corumbá, MS*, v. 58, p. 1-21.
- Grant, T. & Kluge, A. G. 2003. Data exploration in phylogenetic inference: scientific, heuristic, or neither. *Cladistics*, v.20, p. 23-31.

- Grant, T.; Frost, D.R.; Caldwell, J.P.; Gagliardo, R.; Haddad, C.F.B.; Kok, P.J.R.; Means, D.B.; Noonan, B.P.; Schargel, W.E. & Wheeler, W.C. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphtanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v.299,p.1–262.
- Greenbaum, E. 2006. *Molecular systematics of New World microhylid frogs, with an emphasis on the Middle American genus Hypopachus*. The University of Kansas, Lawrence. (Ph. D)
- Griffith, H. 1990. Miniaturization and elongation in Eumeces (Sauria: Scincidae). *Copeia*, 1990, p. 751–758.
- Griffiths, I. 1963. The phylogeny of the Salientia. *Biological Review*, v. 38, p.241-292.
- Haas, A. 2003. Phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters (Amphibia: Anura). *Cladistics*, v.19, p.23–89.
- Hanken, J. 1984. Miniaturization and its effects on cranial morphology in plethodontid salamanders, genus Thorius (Amphibia: Plethodontidae). I. Osteological variation. *Biological Journal of Linnean Society*, v.23, p. 55–75.
- Hanken, J. & Wake, D. B. 1993. Miniaturization of body size: organismal consequences and evolutionary significance. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v.24, p. 501–519.
- Hennig, W. 1966. *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois, Urbana.
- Higgins, R. P. & Thiel, H. 1988. *Introduction to the study of meiofauna*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Kluge, A. & Farris, J. 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Systematic Zoology*, v. 18, p. 1-32.
- Lehr, E. & Trueb, L. 2007. Diversity among new world microhylid frogs (Anura: Microhylidae): morphological and osteological comparisons between Nelsonophryne (Günther 1901) and a new genus from Peru. *Zoological Journal of the Linnean Society*, v.149, p. 583-609.
- Lescure, J. & Marty, C. 2000. *Atlas des amphibiens de Guyane*. Muséum National D'Histoire Naturelle de Paris. (Patrimoines Naturels).
- Lynch, J. D. 1971. Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of leptodactylid frogs. *Misc. Publications. Museum of Natural History, University of Kansas*, n. 53, p. 1-238.

- Lynch, J. D. 1973. The transition from archaic to advanced frogs. pp. 133-182 in J. L. Vial (Ed.) *Evolutionary Biology of the Anurans: Contemporary Research on Major Problems*. University of Missouri Press, Columbia.
- Maddison, W. P. 1993. Missing data versus missing characters in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*, v.42, p. 576-581.
- Maddison, W. P. & Maddison, D. R. 2008. *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.5*. <http://mesquiteproject.org>.
- Matsui, M. 2009. A new species of *Kalophrynus* with a unique male humeral spine from Peninsular Malaysia (Amphibia, Anura, Microhylidae). *Zoological Science*. Tokyo, v.26, p. 579-585.
- Milner, A. R. 1988. The relationships and origin of living amphibians. pp. 59–102 in M. J. Benton, (Ed). *The phylogeny and classification of the tetrapods. Vol. 1. Amphibians, reptiles, birds*. Clarendon Press, Oxford, U.K.
- Miranda-Ribeiro, A. 1924. De Batrachorum generos specibusque duobus in Collectio Musei Nationalis Servatis. *Boletim do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, v.1, p. 255-257.
- Moravec, J. & Köhler, J. 2007. A new species of *Chiasmocleis* (Anura: Microhylidae) from the Iquitos region, Amazonian Peru, with possible direct development. *Zootaxa*, n. 1605, p. 59–67.
- Nelson, C. E. 1972. Systematic studies of the North American microhylid genus *Gastrophryne*. *Journal of Herpetology*, v.6, n. 2, p. 111-137.
- Nelson, C. E. 1973. Mating Calls of the Microhylinae: descriptions and phylogenetic and ecological considerations. *Herpetologica*, v. 29, p.163-176.
- Nelson, C. E. 1975. Another new miniature 4-toed South American microhylid frog (genus *Syncope*). *Journal of Herpetology*, v. 9, n.1, p.81-84.
- Nelson, G. & Platnick, N. 1981. *Systematics and Biogeography. Cladistics and Vicariance*. Columbia University Press, New York.
- Nicholls, G. C. 1916. The structure of the vertebral column in the anura phaneroglossa and its importance as a basis of classification. *Proceedings of the Linnean Society of London*, 1916, p. 80-92.
- Noble, G. K, 1922. *The phylogeny of the Salientia*. I. The osteology and the thigh musculature, their bearing on classification and phylogeny. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v.46, p.1-87.
- Noble, G. K. 1931. *The Biology of the Amphibia*. McGraw-Hill Book Co., New York.

- Orme, C. D. L.; Quicke, D. L. J.; Cook, J. M. & Purvis, A. 2002. Body size does not predict species richness among the metazoan phyla. *Journal of Evolutionary Biology*, v.15, p. 235–247.
- Parker, B. A. 1934. *A monograph of the frogs of the family Microhylidae*. The British Museum, London.
- Parker, H. W. 1928. The brevicipitid frogs of the genus *Microhyla*. *Annals and Magazine of Natural History*, Ser. 10, v. 2, p. 473-499.
- Peloso, P. L. V. & Sturaro, M. J. 2008. A new species of narrow-mouthed frog of the genus *Chiasmocleis* Méhely, 1904 (Anura, Microhylidae) from the Amazonian rainforest of Brazil. *Zootaxa*, n.1947, p.39-52.
- Pimenta, B. V. S.; Cruz, C. A. G. & Dixo, M. 2002. *Chiasmocleis carvalhoi*. Geographical distribution. *Herpetological Review*, v.33, p.219.
- Pyburn, W. F. 1975. A new species of microhylid frog of the genus *Synapturanus* from southeastern Colombia. *Herpetologica*, v.31, p. 439-443.
- Rieppel, O. 1988. *Fundamentals of Comparative Biology*. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Savage, J. M. & Heyer, W. R. 1997. Digital webbing formulae for anurans: a refinement. *Herpetological Review*, v.28, p.131.
- Schulze, A.; Jansen, M. & Köhler, G. 2009. Diversity and ecology of anuran communities in San Sebastián (Chiquitano region, Bolivia). *Salamandra*, v.45, n.2, p. 75-90.
- Scott, E. 2005. A phylogeny of ranid frogs (Anura: Ranoidea: Ranidae), based on a simultaneous analysis of morphological and molecular data. *Cladistics*, v.21, p.507–574.
- Song, J. & Parenti, L. R. 1995. Clearing and Staining Whole Fish Specimens for Simultaneous Demonstration of Bone, Cartilage, and Nerves. *Copeia*, 1995, n.1, p. 114–118.
- Springer, V.G. E. & Johnson, G.D. 2000. Use and Advantages of Ethanol Solution of Alizarin Red S Dye for Staining Bone in Fishes. *Copeia*, 2000, n.1, p. 300-301
- Taylor, W. R. & Van Dyke, G. C. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for boné and cartilage study. *Cybium*, v.9, 2, p.107-119.
- Trewavas, E. 1933. The hyoid and larynx of the Anura. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, v. 222, p. 401-527.

- Trueb, L. 1973. Bones, Frogs, and Evolution. pp. 65-132. in J.L. Vial (Ed.), *Evolutionary biology of the anurans: contemporary research on major problems*. University of Missouri Press, Columbia.
- Trueb, L. & Alberch, P. 1985. Miniaturization and the anuran skull: a case study of heterochrony. pp. 113–121 in H. R. Duncker and G. Fleischer, (Eds.) *Functional morphology of the vertebrates*. Gustav Fischer Verlag, New York.
- Uetanabaro, M.; Souza, F.L.; P.L., Landgraf Filho, P.; Beda, A.F. & Brandão, R.A. 2007. Anfíbios e répteis do Parque Nacional da Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Biota Neotropica*, v.7, n.3, p. 279-289.
- Van Der Meijden, A.; Vences, M.; Hoegg, S.; Boistel R.; Channing, A. & Meyer, A. 2007. Nuclear gene phylogeny of narrow-mouthed toads (Family Microhylidae) and a discussion of competing hypotheses concerning their biogeographical origins. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.44, n.3, p. 1017–1030.
- Van Sluys, M. 1998. *Chiasmocleis capixaba*. Geographical distribution. *Herpetological Review*, v.29:106–107.
- Walker, C. F. 1973. A new genus and species of microhylid frog from Ecuador. *Occasional Papers of the Museum of Natural History of the University of Kansas*, v.20, p.1-7.
- Walker, C.F. & Duellman, W. E. 1974. Description of a new species of microhylid frog, *Chiasmocleis*, from Ecuador. *Occasional Papers of Museum of Natural History, University of Kansas*, n. 26, p. 1-6.
- Wild, E. R. 1995. New genus and species of Amazonian microhylid frog with a phylogenetic analysis of New World genera. *Copeia*, 1995, p.837-849.
- Wiley, E. O. 1981. *Phylogenetics: The theory and practice of phylogenetic systematics*. Wiley Interscience, New York.
- Wu, S.-H. 1994. *Phylogenetic relationships, higher classification, and historical biogeography of the microhylid frogs (Lissamphibia: Anura: Brevicipitidae and Microhylidae)*. University of Michigan. (Ph. D.)
- Yeh, J. 2002. The effect of miniaturized body size on skeletal morphology in frogs. *Evolution*, v.56, n.3, p. 628-641.
- Zweifel, R. G. 1972. Results of the Archbold Expeditions 97. A revision of the frogs of the subfamily Asterophryinae, family Microhylidae. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 148, p. 411-546.

- Zweifel, R. G. 1986. A new genus and species of microhylid frog from the Cerro de la Neblina region of Venezuela and a discussion of relationships among New World microhylid genera. *American Museum Novitates*, n. 2863, p.1-24.
- Zweifel, R. G. & Myers, C. W. 1989. A new frog of the genus *Ctenophryne* (Microhylidae) from the Pacific lowlands of northwestern South America. *American Museum Novitates*, n. 2947, p. 1-16.