



Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília

Departamento de Ciências Fisiológicas

Pós-Graduação em Biologia Animal

Laboratório de Anatomia Comparativa dos Vertebrados

Sistemática filogenética de espécies do grupo
Leptodactylus marmoratus (Anura, Leptodactylidae): uma
abordagem miológica e osteológica

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal do
Instituto de Ciências Biológicas da
Universidade de Brasília como requisito
à obtenção do título de Mestre em
Biologia Animal

Tainã Rapp Py-Daniel

Orientador: Dr. Antônio Sebben

Co-orientador: Dr. Hélio Ricardo da Silva

Brasília-DF

FEV/2012

*Dedico esse trabalho aos meus pais Lúcia e Victor
e às minhas irmãs Anne, Karen e Sarah.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Antônio Sebben pela oportunidade dada e pela sua inspiradora dedicação e amor ao que faz.

Ao meu co-orientador Dr. Hélio R. da Silva pela orientação na análise filogenética e pelo seu animado jeito de ser que motiva qualquer um.

Ao Dr. Marcelo Menin por ter instigado o meu gosto pelo grupo estudado.

Ao Dr. Osmindo R. Pires Jr., meu companheiro, pelo apoio, ajuda nas coletas e por sempre ter me ajudado nos momentos difíceis.

Aos meus amigos e colegas de trabalho Lucélia G. Vieira, Leandro Ambrósio Campos e Fabiano Lima pelos incentivos, auxílios e generosos conselhos.

Ao Dr. Natan Maciel e ao aluno Rafael F. de Magalhães pelo apoio, amizade e auxílio na parte filogenética.

Ao biólogo Pedro Ivo M. Pellicano e técnico Washigton J. Oliveira pela amizade e ajuda sempre que precisei.

Aos alunos do Laboratório de Toxinologia, Jimmy Guerrero, Harry M. Duque, Claudia J. A. Belalcázar, Rafael D. Melani, Natiela Beatriz, Caroline Barbosa e Fagner N. Oliveira pelo companheirismo e pelos bons momentos compartilhados.

Aos pesquisadores que contribuíram com a doação e empréstimo de espécimes, sem os quais este trabalho não seria possível: Ariovaldo Giaretta (Universidade Federal de Uberlândia), Guarino R. Colli (Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília), José P. Pombal Jr (Museu Nacional do Rio de Janeiro), Helio de Queiroz Boudet Fernandes (Museu de Biologia Prof. Mello Leitão), Marcos André de Carvalho (Universidade Federal de Mato Grosso), Glaucia Pontes (Museu de Ciências e tecnologia da PUC Rio Grande do Sul), Franco Leandro de Souza (Universidade Federal do Mato Grosso do Sul), Richard C. Vogt (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia), Antoine Fouquet (Universidade de São Paulo), Milena Wachlevski Machado (Universidade Federal de Santa Catarina) e Maurício Almeida-Gomes (Universidade do Estado do Rio de Janeiro).

À Érica N. Saito (UFSC) por ter permitido que eu acompanhasse as suas coletas e pela amizade formada.

À Isis Arantes (gerente da Coleção Herpetológica da UNB) pelo auxílio dado durante o depósito e envio de material.

Ao André Canto e Renildo R. Oliveira (INPA) que me ensinaram a arte da diafanização.

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

Ao Decanato de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade de Brasília por conceder auxílio financeiro à expedição de campo.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Breve histórico filogenético da família Leptodactylidae e do gênero <i>Leptodactylus</i>	1
1.2. O gênero <i>Leptodactylus</i>	2
1.3. O grupo <i>Leptodactylus marmoratus</i>	5
2. MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1. Material examinado.....	10
2.2. Método de coloração com solução de Lugol.....	14
2.3. Método de diafanização e dupla coloração.....	14
2.4. Estruturas analisadas e fotodocumentação.....	15
2.5. Caracteres.....	15
2.6. Análise cladística.....	16
3. RESULTADOS	19
3.1. Miologia.....	19
3.2. Osteologia.....	31
3.3. Caracteres.....	36
3.4. Análise cladística.....	46
4. DISCUSSÕES	50
4.1. Miologia.....	50
4.1.1. Diferenças relativas ao estudo de Heyer (1974).....	51
4.1.2. Dimorfismo sexual em músculos do aparato hióide.....	56
4.2. Dimorfismo sexual: evidências osteológicas do crânio.....	57
4.3. Análise cladística.....	60
4.3.1. Sinapomorfias do grupo <i>L. marmoratus</i>	63
5. CONCLUSÕES	66
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
7. ANEXOS	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Filogenia indicando o parafiletismo do gênero *Leptodactylus* (redesenhada de Heyer, 1998). Os gêneros *Adenomera*, *Lithodytes* e *Vanzolinius* (em cinza) posicionaram-se dentro ao invés de fora da linhagem de *Leptodactylus*.....3

Figura 2. Parte da filogenia de Leptodactylidae redesenhada de Frost *et al.* (2006) mostrando o parafiletismo dos gêneros *Adenomera*, *Lithodytes* e *Vanzolinius* em relação à *Leptodactylus*.....4

Figura 3. Vista ventral dos músculos superficiais da região gular mostrando a variação intraespecífica encontrada no aspecto da aponeurose mediana. A e B, machos de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM); C e D, machos de *Leptodactylus hylaedactylus* de Manaus (AM); e F, fêmeas de *Leptodactylus* sp. de Uberlândia (MG). Abreviaturas: e, Elementos suplementares do m. intermandibular; GM, m. geniohióide medial; Ih, m. interhióide; Im, m. intermandibular; S, m. submental. Escala: 1mm.....20

Figura 4. Vista ventral de músculos superficiais de *Leptodactylus fuscus* de Poconé (MT). A, elemento suplementar recobrando as laterais do m. submental; B, elemento suplementar removido, expondo o limite anterior do m. intermandibular. Abreviaturas: E, elemento suplementar do intermandibular; Im, m. intermandibular; S, m. submental. Escala: 4mm.....21

Figura 5. Vista ventral dos músculos intermediários da região gular de: A. *Leptodactylus* sp. de Uberlândia (MG), fêmea, com um m. esternohióide delgado; B, *Leptodactylus marmoratus* Rio de Janeiro (RJ), fêmea, com um m. esternohióide largo e dilatado latero-lateralmente. Abreviaturas: E, m. esternohióide; H, m. hioglosso; GL, m. geniohióide lateral; GM, m. geniohióide medial. Escala: 2mm.....21

Figura 6. Dimorfismo sexual no m. geniohióide lateral. A, Macho de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM), com a margem lateral do m. geniohióide lateral expandida lateralmente para aderir ao processo hial do hióide (cabeça de seta); B, Fêmea de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM) com a margem lateral do m. geniohióide lateral sem uma expansão lateral distinta para adesão ao processo hial. Abreviaturas: GL, m. geniohióide lateral; GM, m. geniohióide medial; S, m. submental. Escala: 1mm.....24

Figura 7. Vista ventral dos músculos da língua. A, B: macho de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM); C, D: macho de *Leptodactylus hylaedactylus* de Manaus (AM); E, F: fêmea de

Leptodactylus sp. de Uberlândia (MG). (E) m. esternohióide; (Gb) m. geniohióide basal; (Gm) m. geniohióide medial; (H) m. hioglosso; (L) língua; (Pa) m. petrohióide anterior. Escala: 1mm.....26

Figura 8. Vista ventral de A, *Leptodactylus marmoratus* do Rio de Janeiro (RJ), fêmea, com o m. esternohióide dilatado lateralmente e processo alar do hióide largo; B, *Leptodactylus* sp. de Piripiri (PI), fêmea, com o m. esternohióide reto e processo alar do hióide pequeno. Abreviaturas: Pa, m. petrohióide anterior; Pal, processo alar do hióide; E, m. esternohióide. Escala: 2mm.....26

Figura 9. Vista ventral de músculos da língua, evidenciando diferenças encontradas entre (A) *Leptodactylus lineatus* de Porto Velho (RO) e (B) *L. fuscus* de Monte Alegre, Goiás; e vista ventral mostrando a inserção lateral e posteromedial do m. esternohióide em *L. lineatus* (C) e a inserção apenas lateral do m. esternohióide em *L. furnarius* (D). Abreviaturas: E, m. esternohióide; GM, m. genioglosso medial; H, m. hioglosso; PH, placa hióide. Escala: 4mm.....27

Figura 10. Dimorfismo sexual do m. petrohióide anterior. A, Macho de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM), mostrando a inserção lateral do m. petrohióide anterior no processo hial (cabeça de seta); B, Fêmea de *L. andreae* de Manaus (AM), mostrando o afastamento do m. petrohióide anterior em relação ao processo hial (cabeça de seta); Abreviaturas: Pa, m. petrohióide anterior; E, m. esternohióide; Ph, Processo hial do hióide. Escala: 1mm.....27

Figura 11. Músculos hiolaríngeos de espécies do grupo *Leptodactylus marmoratus*. A: vista ventral do hióide de um macho de *L. andreae* de Manaus (AM); B: vista ventral do hióide de um macho de *L. hylaedactylus* de Manaus (AM); C: vista ventral do hióide de uma fêmea de *Leptodactylus* sp. de Uberlândia (MG); D: vista dorsal da laringe um macho de *L. andreae* de Manaus (AM); E: vista dorsal da laringe de um macho de *L. hylaedactylus* de Manaus (AM); F: vista dorsal da laringe de uma fêmea de *Leptodactylus* sp. de Uberlândia (MG). (A) aritenóide; (CA) m. constritor anterior da laringe; (CE) m. constritor externo da laringe; (CP) músculo constritor posterior da laringe; (D) m. dilatador da laringe; (E) m. esternohióide; (EP) processo esofágial da laringe; (H) processo hial; (Pa) m. petrohióide anterior; (Ph) placa hióide; (Pp) mm. petrohióide posteriores; (PPM) processo posteromedial do hióide. Escala: 1mm.....29

Figura 12. Evidências de dimorfismo sexual no crânio de *Leptodactylus hylaedactylus* de Manaus (AM). Vista dorsal (A) e ventral (C) de uma fêmea, e vista dorsal (B) e ventral (D) de um macho. Abreviaturas: E, esfenetmóide; FO, forâmen óptico; N, nasal; O, orbitoesfenóide; SN, *solum nasi*; SPN, septo nasal; TN, *tectum nasi*; V, vômer Escala: 3mm.....35

Figura 13. Vista frontal do processo alar da premaxila de (A) *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM), (B) *L. martinezi* de Palmas (TO), (C) *L. sp.* de Piripiri (PI) e (D) *L. sp.* de Uberlândia (MG). Números representam os caracteres da metade distal, margem dorsal e margem lateral do processo alar, e os números entre parênteses os respectivos estados encontrados. Escala: 1mm.....37

Figura 14. Vista dorsal do crânio de fêmeas de (A) *L. hylaedactylus* de Manaus (AM), (B) *L. martinezi* de Palmas (TO), (C) *L. cf. bokermanni* de Botucatu (SP) e *L. lineatus* de (D) Porto Velho (RO). Números fora dos parênteses se referem aos caracteres e os números entre os parênteses aos respectivos estados. Escala: 3mm.....37

Figura 15. Vista ventral da região anterior do crânio de *L. discodactylus* de Carauari (AM), evidenciando o processo em quilha com aspecto de aba do neopalatino e o estreitamento anterior do processo cultriforme do paraesfenóide. Número ao lado dos parênteses se refere ao caractere e, entre os parênteses, ao estado. Escala 3mm.....42

Figura 16. Vista ventral do hióide de (A) *L. hylaedactylus* de Manaus (AM) e (B) *L. discodactylus* de Carauari (AM). Números ao lado dos parênteses se referem aos caracteres levantados e números entre parênteses aos seus respectivos estados. Escala: 2mm.....42

Figura 17. Terceiro dedo do pé, evidenciando diferentes estados encontrados para a extremidade da falange distal. A, *L. martinezi*; B, *L. marmoratus* C, *L. discodactylus*. Abreviaturas: FD, falange distal; FM, falange medial; FP, falange proximal. Escala: 2mm.....44

Figura 18. Vistas ventrais das mãos de (A) *Leptodactylus lineatus* de Porto Velho (RO) e (B) *L. cf. bokermanni* de Botucatu (SP) evidenciando a presença e ausência, respectivamente, do sesamóide acima do carpal 5-4-3. Vistas ventrais dos pés de *L. lineatus* (C) e *L. bokermanni* (D), mostrando a presença, respectivamente, de um e três sesamóides. Abreviaturas: SC, sesamóide carpal; C, carpal; ST, sesamóide tarsal. Escala: 2mm.....44

Figura 19. Vista ventral das vértebras de *L. discodactylus* de Carauari (AM), evidenciando os depósitos de cálcio entre os processos transversos das vértebras. O número ao lado dos parênteses se refere ao caractere e o número entre os parênteses ao estado. Escala 2mm.....45

Figura 20. Cladograma da árvore mais parcimoniosa obtida para espécies do grupo *Leptodactylus marmoratus*. Números de cada nó indicado no local de cada nó. Os números

abaixo dos ramos isolados ou a esquerda da barra se referem aos valores de suporte de Bremer e os à direita da barra correspondem aos valores de Bootstrap maiores que 50. As barras à direita indicam as regiões onde cada espécie ocorre.....38

Figura 21. Cladograma com as sinapomorfias de cada clado e as autapomorfias de cada espécie. Círculos preenchidos correspondem a caracteres não homoplásicos e os vazios a caracteres homoplásicos. Números acima dos círculos se referem aos caracteres e os números abaixo aos estados respectivos. Caracteres ambíguos não estão representados.....39

Figura 22. Esquemas redesenhados de Heyer (1974) ilustrando os estados encontrados por este autor do m. geniohióideo medial. A, estado (0); B, estado (1); e C estado (2). Segundo Heyer (1974) o estado (0) foi encontrado em *L. andreae* e *L. cf. bokermanni*; e o estado (2) em *L. hylaedactylus* e *L. marmoratus*. O autor também comenta que estado (1) não foi apontado para nenhuma espécie do grupo *L. marmoratus* e sim para outros leptodacilídeos.....46

Figura 23. Esquemas redesenhados de Heyer (1974) ilustrando os estados de inserção do m. petrohióide anterior (músculo lateral) e do m. esternohióide (músculos medial indicado pela cor cinza) encontrados pelo autor. O m. petrohióide anterior está representado em A e B como o estado (1), C como o estado (2) e D o estado (0). O m. esternohióide está representado em A e C como o estado (1), e B e D como o estado (2).....47

Figura 24. Filogenia com dados acústicos e morfológicos de Angulo (2004) para espécies de *Adenomera* (=grupo *L. marmoratus*). Valores próximos aos nós se referem ao suporte de Bremer.....60

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Origem e inserção dos músculos superficiais, intermediários e profundos (músculos hiolaríngeos e linguais) da região intermandibular da mandíbula de espécies do grupo *Leptodactylus marmoratus*.....30

Tabela 2. Comparativo das diferenças em músculos do hióide encontradas entre o trabalho de Heyer (1974) e o presente estudo.....54

Tabela A. Matrix de dados dos 42 caracteres codificados para as espécies do grupo externo (*L. discodactylus* e *L. lineatus*) e interno (grupo *L. marmoratus*). Caracteres polimórficos seguem a seguinte codificação: a = 0/1; b = 0/2; c = 1/2. Ausência de informação está representada pelo símbolo (?).....74

RESUMO

O gênero *Leptodactylus* é composto por 89 espécies distribuídas no sul da América do Norte, América do Sul e algumas ilhas Caribenhas. Estas espécies costumam ser divididas em cinco grupos fenéticos. O grupo *L. marmoratus* é caracterizado por espécies de pequeno porte que constroem câmaras subterrâneas aonde se desenvolvem girinos endo ou exotróficos. Análises filogenéticas com base em dados moleculares recentes sugerem que o grupo *L. marmoratus* seja monofilético. Entretanto, poucos estudos analisaram as relações entre as espécies do grupo e há escassos trabalhos morfológicos com o grupo. Com base nisso, o presente trabalho teve como objetivo investigar conjuntos de dados miológicos e osteológicos e, a partir destes, propor uma hipótese filogenética para espécies do grupo *L. marmoratus*. Foram acessados dados da musculatura superficial da mandíbula, hióide e da língua, assim como a osteologia cranial e pós-cranial de 12 espécies do grupo (duas das quais ainda não foram descritas) e duas espécies do grupo externo. Um levantamento preliminar de músculos de duas espécies do grupo *L. fuscus* também foi realizado. Em todas as espécies do grupo analisadas foram encontradas evidências de dimorfismo sexual para os músculos petrohióide anterior e genihióide lateral, os quais estão relacionados ao aparato hióide. Também foram encontradas características sexualmente dimórficas na osteologia da região do crânio de todas as espécies do grupo *L. marmoratus*. A maior parte dos músculos analisados se manteve constante entre as espécies do grupo *L. marmoratus*. Entretanto, diferenças foram encontradas entre este grupo e duas espécies do grupo *L. fuscus*, o que sugere que possam representar informações indicativas de grupos monofiléticos entre as espécies de *Leptodactylus*. Assumindo-se que o grupo *L. marmoratus* seja monofilético, realizamos uma análise cladística com 42 caracteres. Os resultados indicam grande conteúdo de informação entre os caracteres avaliados, uma vez que apenas uma árvore sem politomias foi obtida. Estes resultados corroboram o monofiletismo das espécies do grupo *L. marmoratus*. Este grupo se subdividiu em dois cladogramas: um composto por espécies amazônicas de ambientes abertos e de Cerrado, e outro clado composto por espécies do sudeste, sul, nordeste e uma espécie amazônica de ambiente florestado.

ABSTRACT

The genus *Leptodactylus* comprises 89 species which are distributed along south of North America, South America and a few Caribbean islands. These species are commonly divided in five phenetic groups. The *L. marmoratus* group is characterized by its small sized species that construct subterranean chambers where the development of endo or exotrophic tadpoles takes place. Phylogenetic analyses based in recent molecular data suggest that the *L. marmoratus* group is monophyletic. However, few studies have analyzed the internal relationships between its species and there are scarce morphological studies with the group. Based on these facts, this work aimed to investigate sets of miological and osteological data and, from these, propose a phylogenetic hypothesis for species of the *L. marmoratus* group. We accessed data from the superficial mandible, hyoid and tongue musculature, as well as cranial and postcranial osteology for 12 species of the group (two of which have not yet been described) e two species of the outgroup. A preliminary survey of muscles of two species of the group *L. fuscus* was also accomplished. Evidence of sexual dimorphism is indicated for the músculos anterior petrohyoideus and geniohyoideus lateralis, which are involved with the hyoide apparatus. We also found sexually dimorphic characteristics on the cranial osteology of all the species of the *L. marmoratus* group examined. The majority of the muscles analyzed were constant between the species of the *L. marmoratus* group, however distinct differences were found between the species of this group and species of the *L. fuscus* group, suggesting that they might indicate monophyletic groups among the species of *Leptodactylus*. Assuming that the *L. marmoratus* group is monophyletic, we implemented a cladistic analysis with 42 characters. The results indicate a large amount of information between the characters, since only one tree without polytomies was obtained. These results corroborate the monophyletism of the *L. marmoratus* group. This group was subdivided in two clades: one composed of Amazonian species of open habitats and of Cerrado, and another clade composed of species of the southeast, south and northeastern Brazil and one Amazonian species of forested regions.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Histórico Filogenético de Leptodactylidae

A família Leptodactylidae abriga aproximadamente 100 espécies distribuídas no extremo sul dos Estados Unidos, México tropical, América Central e América do Sul (Frost, 2012). Ford (1989) comentou sobre a ausência de sinapomorfia para esta família e Darst e Cannatella (2004) indicaram-a como altamente polifilética. Apesar disto, a amostragem utilizada por estes estudos não permitiu sugerir uma taxonomia alternativa (Ford, 1989)

Frost *et al.* (2006), propuseram uma nova taxonomia para os anfíbios viventes a partir da maior análise filogenética já realizada para o táxon. Para isto, dados moleculares foram associados aos dados larvais de Haas (2003), e foram analisadas espécies representativas de praticamente todos os níveis taxonômicos superiores (famílias e subfamílias).

Com este estudo, a família Leptodactylidae, que abrigava as subfamílias Ceratophryinae, Cycloramphinae, Eleutherodactylinae, Leptodactylinae e Telmatobiinae, sofreu inúmeras reformulações. As subfamílias Ceratophryinae e Telmatobiinae passaram a compor a família Ceratophryidae, na qual também foi incluída Batrachylinae. A subfamília Cycloramphinae foi elevada à condição de família Cycloramphidae e posteriormente dividida em Cycloramphidae e Hylodidae por Grant *et al.*, (2006). A tribo Calyptocephalellini (antes pertencente à Telmatobiinae) foi elevada a categoria de família Calyptocephalellidae. A subfamília Eleutherodactylinae foi incorporada à família Brachycephalidae, a qual foi posteriormente reestruturada por Hedges *et al.* (2008). Já a subfamília Leptodactylinae passou para o *status* de família Leptodactylidae com a exclusão de *Limnomedusa* e adição de *Paratelmatoobius* e *Scythrophrys* (anteriormente alocadas em Cycloramphinae; Frost *et al.*, 2006).

A construção de ninhos de espuma por um grande número de espécies desta família (comportamento não observado em *Paratelmatoobius*, *Pseudopaludicola*, *Scythrophrys*, *Somuncuria* e alguns membros de *Pleurodema*) foi indicada como uma possível sinapomorfia do grupo (Frost *et al.*, 2006). Estes autores também consideraram o esterno ósseo da antiga subfamília Leptodactylinae de Lynch (1971) como uma sinapomorfia do táxon, com reversão à condição cartilaginosa no clado formado por

Paratelmatoebius e *Scythrophrys*. O esterno ósseo de *Limnomedusa* foi considerado uma convergência, assim como o esterno calcificado de *Barycholos* (Frost *et al.*, 2006).

Grant *et al.* (2006), por sua vez, removeram da família Leptodactylidae os gêneros *Edalorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix*, *Physalaemus*, *Pleurodema*, *Pseudopaludicola* e *Somuncuria*, os quais passaram a representar a família Leiuperidae. Conforme estes autores, os gêneros atualmente reconhecidos para Leptodactylidae são: *Hydrolaetare* Gallardo, 1963, *Leptodactylus* Fitzinger, 1826, *Paratelmatoebius* Lutz e Carvalho, 1958 e *Scythrophrys* Lynch, 1971 (Frost, 2010). Grant *et al.* (2006) ressaltam, entretanto, que *Hydrolaetare* foi mantida nesta família com base em relações de parentesco sugeridas por Heyer (1970), e que novos estudos devem ser realizados para confirmar esta proposta.

1.2. O gênero *Leptodactylus*

A maioria das espécies da atual família Leptodactylidae encontra-se no gênero *Leptodactylus* (Fitzinger, 1826), que contém 89 espécies nominais (Frost, 2012). Sua distribuição se estende do sul da América do Norte até o sul da Argentina, e em algumas ilhas Caribenhas (Frost, 2012).

O gênero *Leptodactylus* foi subdividido em cinco grupos fenéticos por Heyer (1969), com base em dados morfológicos e comportamentais: grupos *Leptodactylus fuscus*, *Leptodactylus melanonotus*, *Leptodactylus ocellatus*, *Leptodactylus pentadactylus* e *Leptodactylus marmoratus*. Muitas outras contribuições deste autor enriqueceram a taxonomia destes grupos posteriormente (Heyer, 1969; 1973; 1974; 1975; 1978; 1994; 1998; 2005).

Entre os grupos propostos, o que apresentava características morfológicas e de história natural mais distintas era o grupo *L. marmoratus*. As primeiras espécies conhecidas deste grupo colocavam ovos em ninhos de espuma terrestres e tinham girinos endotróficos (Heyer, 1969). Estas características levaram Heyer (1974) a alocar as espécies deste grupo no gênero *Adenomera* Steindachner, 1867. A descoberta de espécies com girinos exotróficos aquáticos, contudo, trouxe dúvidas quanto a esse arranjo (de La Riva, 1996). Dados de morfologia e bioacústica de Heyer (1998), posteriormente apontaram o parafiletismo de *Leptodactylus* em relação aos gêneros *Adenomera*, *Lithodytes* e *Vanzolinius* (Fig. 1). No entanto, a baixa amostragem de táxons utilizada justificou sua decisão de não realizar mudanças taxonômicas.

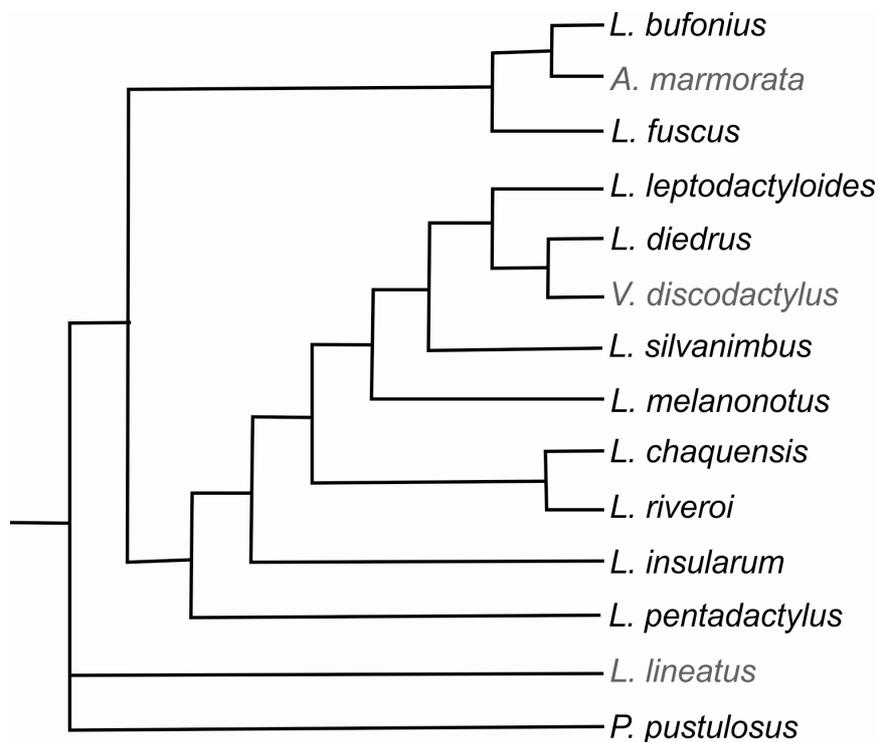


Figura 1. Filogenia indicando o parafiletismo do gênero *Leptodactylus* (redesenhada de Heyer, 1998). Os gêneros *Adenomera*, *Lithodytes* e *Vanzolinius* (em cinza) posicionaram-se dentro ao invés de fora da linhagem de *Leptodactylus*.

Dados de história natural confirmam o estudo de Heyer (1998). A descoberta de girinos aquáticos em duas espécies do gênero *Adenomera* [(*A. diptyx* por De La Riva (1995) e *A. thomei* por Almeida e Angulo (2006)] gerou dúvidas sobre o monofiletismo de *Adenomera* como definida por Heyer (1974). Girinos aquáticos e o hábito de construir câmaras subterrâneas por machos são compartilhadas por algumas espécies de *Adenomera* e do grupo *L. fuscus*, (Kokubum e Giaretta, 2005). Outra característica semelhante, desta vez entre as espécies de *Adenomera* e as dos grupos *L. fuscus* e *L. pentadactylus* é a capacidade de produção de espuma por girinos (Kokobum e Giaretta, 2005). Recentemente, Giaretta *et al.* (2011) também encontraram semelhanças na morfologia das glândulas bucais dos girinos produtores desta espuma entre *L. furnarius* (grupo *L. fuscus*), *L. labyrinthicus* (grupo *L. pentadactylus*) e uma espécie não descrita do grupo *L. marmoratus*.

A hipótese filogenética obtida através da análise combinada de dados moleculares e morfológicos, apresentada por De Sá *et al.* (2005), difere

dados de morfologia externa, etologia, morfometria, osteologia e morfologia craniana de larvas, corroborou as hipóteses sugerida por Heyer (1998) e Frost *et al.* (2006), quanto à posição e, conseqüentemente, a validade do subgênero *Lithodytes*. Este subgênero se posicionou como grupo irmão do clado constituído pelas demais espécies de *Leptodactylus*, mais proximamente relacionado ao clado *L. podicipinus*-*L. melanonotus*. Já *Vanzolinius discodactylus* formou um clado com o subgênero *Lithodytes*, diferindo dos resultados de Heyer (1998) e Frost *et al.* (2006).

A análise de dados moleculares com base em inferência bayesiana, realizada por Silva *et al.* (2009) questionam o monofiletismo de *Leptodactylus* como proposto por Frost *et al.* (2006) e Ponssa (2008), pois o subgênero *Lithodytes* aparece em um clado separado dos demais *Leptodactylus*. As outras espécies de *Leptodactylus*, por sua vez, aparecem divididas em dois clados, um formado pelos grupos *L. fuscus* e *L. pentadactylus* e o outro constituído pelos grupos *L. ocellatus* e *L. melanonotus*.

Outros dados moleculares (Antoine Fouquet, comunicação pessoal) e bioacústicos (Angulo, 2004; Kwet, 2007) também fornecem apoio à hipótese de que o grupo *L. marmoratus* (= *Adenomera*) represente um agrupamento natural. O fato de apenas uma espécie do grupo ter sido amostrada na análise filogenética de Frost *et al.* (2006) faz com que alguns autores ainda considerem o gênero *Adenomera* como válido (Ponssa e Heyer, 2007; Fouquet *et al.*, 2007; Kwet, 2007; Kwet *et al.*, 2009). Outros autores (Almeida e Angulo, 2006; Angulo e Reichle, 2008), no entanto, resolveram manter uma posição mais imparcial, se referindo às espécies de *Adenomera* como do grupo *Leptodactylus marmoratus*, *sensu* Heyer (1974), denominação esta que será seguida no presente trabalho daqui por diante.

1.3. O grupo *Leptodactylus marmoratus*

A taxonomia das espécies do grupo *Leptodactylus marmoratus* também apresenta problemas não resolvidos (Kwet e Angulo, 2002; Almeida e Angulo, 2006). Desde o trabalho de Heyer (1975), duas décadas e meia se passaram sem que novas espécies fossem descritas. Para Angulo *et al.*, 2003 e Ponssa e Heyer (2007) se deve ao alto grau de variação dentro e entre populações, à sua morfologia externa similar e à existência de muitas espécies simpátricas e sintópicas, que dificulta o reconhecimento de novas espécies. Entretanto, com o avanço das técnicas de análise bioacústica o

número de espécies válidas para grupo dobrou e muitas espécies ainda aguardam uma descrição formal (Angulo *et al.*, 2003, Kokubum e Giaretta, 2005; Kwet, 2007; Kwet *et al.*, 2009; Ponssa e Heyer (2007).

Quinze espécies, todas de pequeno porte, são atualmente reconhecidas para o grupo *L. marmoratus*, a saber: *Leptodactylus ajurauna* Berneck *et al.*, 2008; *L. andreae* Müller, 1923; *L. araucaria* (Kwet e Angulo, 2002); *L. bokermanni* Heyer, 1973; *L. coca* Angulo e Reichle, 2008; *L. diptyx* Boettger, 1885; *L. engelsi* (Kwet *et al.*, 2009); *L. heyeri* (Boistel *et al.*, 2006), *L. hylaedactylus* (Cope, 1868); *L. lutzi* (Heyer, 1975); *L. marmoratus* (Steindachner, 1867); *L. martinezi* Bokermann, 1956; *L. nanus* Muller 1922; *L. simonstuarti* (Angulo e Icochea, 2010) e *L. thomei* (Almeida e Angulo, 2006). Entretanto, é esperado que este número aumente substancialmente nos próximos anos, particularmente na Bacia Amazônica e na Floresta Atlântica do sudeste do Brasil (Kwet e Angulo, 2002; Antoine Fouquet, comunicação pessoal).

A localidade tipo das espécies do grupo *L. marmoratus* são:

1. *Leptodactylus andreae* Muller, 1923. Localidade tipo: Peixeboi, Pará, Brasil.
2. *Leptodactylus ajurauna* Berneck *et al.*, 2008. Localidade tipo: Parque das Neblinas (23°44'47"S; 46°07'45"W), cerca de 700m acima do mar, município de Bertoga, São Paulo, Holótipo: MZUSP136712, macho adulto.
3. *Leptodactylus araucaria* Kwet e Angulo, 2002. Localidade tipo: Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza Pró-Mata (CPCN), município de São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil.
4. *Leptodactylus bokermanni* Heyer, 1973. Localidade tipo: Paranaguá, Paraná, Brasil, altitude 30m.
5. *Leptodactylus coca* Angulo e Reichle, 2008. Localidade tipo: próximo à Carretera Antigua da Villa Tunari ao Cochabamba (c. 800 m acima do nível do mar), logo acima da Vila do El Palmar, Provincia de Chapare, Departamento de Cochabamba, Bolivia.
6. *Leptodactylus hylaedactylus* (Cope), *Cystignathus hylaedactylus* Cope, 1868. Localidade tipo: provavelmente Peru, rio Napo ou "upper Marañon". Holótipo: ANSP 2240, macho.
7. *Leptodactylus diptyx* (Boettger, 1885). Localidade tipo: Paraguai, Lectótipo BNMH 1947: 2.17.47. Revalidado em De La Riva (1996).

8. *Leptodactylus engelsi* Kwet *et al.*, 2009. Localidade tipo: próximo à Praia dos Naufragados (Ilha de Santa Catarina), município de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Holótipo: MCP 6415, macho adulto.

9. *Leptodactylus lutzi* Heyer, 1975. Localidade tipo: “Guyana, Chinapoon, R. acima Potaro (provavelmente Rio Chenapown, Guiana Francesa”.

10. *Leptodactylus nanus* Muller, 1922. Localidade tipo: Região de Corupá, Santa Catarina. Revalidado por Kwet (2007).

11. *Leptodactylus marmoratus* (Fitzinger *in* Steindachner) *Adenomera marmorata* (Fitzinger *in* Steindachner) 1867:37. Taf III, Fig 5-8. Localidade tipo: Brasil. Holótipo: Vienna 16453, macho.

12. *Leptodactylus martinezi* Bokermann, 1956: Neotropica 2:37. Localidade tipo: Cachimbo, sudoeste do estado do Pará, Brasil.

13. *Leptodactylus heyeri* Boistel *et al.*, 2006. Localidade tipo: Guiana Francesa.

14. *Leptodactylus simonstuarti* Angulo e Icochea, 2010. Localidade tipo: Campamento Segakiato, c. 340 m asl, Rio Camisea, Distrito de Echarate, Provincia de La Convención, Region de Cusco, Peru, Holótipo: MHNSM 18218, macho.

15. *Leptodactylus thomei* Almeida e Angulo, 2006. Localidade tipo: Povoação, Espírito Santo, Brasil.

Destas espécies, poucas foram amostradas em análises filogenéticas. Heyer (1974) foi o primeiro a buscar resolver a relação entre o grupo *L. marmoratus* e as demais espécies da antiga subfamília Leptodactylidae. Este trabalho resultou na revalidação do gênero *Adenomera* para acomodar as espécies do grupo *L. marmoratus*. Vale ressaltar, entretanto, que este autor não empregou uma análise filogenética. Foi utilizado um método combinatório que posteriormente foi publicado por Sharrock e Felsenstein (1975). Este método agrupa estados de caracteres compartilhados criando clusteres de espécies. O método tem como pressuposto que a direção de mudança de estados de caracteres dentro de um caractere é irreversível. A análise de Heyer (1974) contou com 50 caracteres provenientes de musculatura, osteologia e morfologia externa de adultos, larvas e ovos, que foram obtidos para 29 táxons, cinco dos quais eram do grupo *L. marmoratus*. O relacionamento fenético obtido entre as cinco espécies do grupo *L. marmoratus* analisadas foi: (*L. martinezi* (*L. andreae* (*L. bokermanni* (*L. hylaedactylus* e *L. marmoratus*))))). Na hipótese preferida deste autor, o gênero *Lithodytes*, que na época agrupava *L. lineatus* e *L. discodactylus*, ficou proximamente relacionado ao grupo *L. marmoratus*.

No arranjo proposto por Heyer (1974), espécies alopátricas formaram um par de espécies: *Leptodactylus hylaedactylus*, da Floresta Amazônica, e *L. marmoratus*, da Floresta Atlântica. *Leptodactylus hylaedactylus*, juntamente com *L. andreae*, são espécies simpátricas com ampla ocorrência na bacia amazônica, assim como *L. marmoratus* e *L. bokermanni* que vivem em simpatria no sudeste brasileiro. Outra semelhança entre estes pares de espécies é que ambos apresentam uma espécie de ambiente florestado (*L. andreae* e *L. marmoratus*) e uma de áreas abertas (*L. hylaedactylus* e *L. bokermanni*). A hipótese de formação de um par de espécies alopátricas também foi sugerida por Heyer (1973), com base principalmente nos estados da ponta dos dedos, onde *L. hylaedactylus* e *L. bokermanni* compartilharam a ponta dos dedos não expandida e *L. andreae* e *L. marmoratus* a ponta dos dedos expandida. Este autor encontrou uma certa hibridização aparente entre as espécies simpátricas *L. hylaedactylus* e *L. andreae*, entretanto o autor comenta que os dados de hibridização, são de difícil interpretação, também podendo indicar que estas espécies estão distantemente relacionadas. Heyer (1973) comenta, entretanto, que se as espécies simpátricas realmente forem mais próximas, um caso interessante de especiação paralela é sugerido para estas quatro espécies.

Outro estudo que buscou compreender como se relacionam as espécies do grupo *L. marmoratus* (na época *Adenomera*) foi o de Angulo (2004). A partir de parâmetros acústicos, osteológicos e de morfologia externa, trinta e dois caracteres foram levantados e analisados pelo método de parcimônia. O relacionamento obtido foi (*Leptodactylus leptodactyloides* ((*Leptodactylus petersii* e *Leptodactylus lineatus*) (*L. discodactylus* (grupo *L. marmoratus*))))), onde o monofiletismo do grupo *L. marmoratus* foi suportado. Angulo (2004) também utilizou os genes RNAr 12S e 16S, juntamente com dados de morfologia e bioacústica em uma análise de evidencia total. Nesta análise, o monofiletismo do grupo *L. marmoratus* e a posição de *Leptodactylus lineatus* como táxon irmão do grupo foram fortemente sustentadas por valores altos de suporte de Bremer e Bootstrap (Angulo, 2004). Entretanto alguns táxons tiveram que ser excluídos da análise devido à ausência de muitos caracteres (*missing values*), provenientes principalmente de dados moleculares. Assim, foi obtido o seguinte relacionamento: (*Leptodactylus leptodactyloidea* (*L. petersii* (*Lithodytes lineatus* (*L. heyeri* (*L. lutzii* (*L. "Camisea I"* (*L. "f.t.III"* (*L. "f.t.II"* e *L. "f.t.I"*))) (*L. thomei* (*L. diptyx* e *L. hylaedactylus*)))))).

Em sua filogenia, Angulo (2004) utilizou um maior número de espécies do grupo *L. marmoratus* do que Heyer (1974). No entanto, como o principal foco do trabalho de Angulo (2004) foi a compreensão da evolução de caracteres acústicos, a relevância dos caracteres morfológicos utilizados pela autora não foi discutida.

Assim, em vista do limitado número de espécies até agora empregados em estudos filogenéticos e dos escassos estudos morfológicos realizados com o grupo *L. marmoratus*, buscamos no presente trabalho: 1) realizar uma descrição anatômica dos sistemas musculares e esqueléticos de espécies do grupo *L. marmoratus*; 2) avaliar a existência ou não de dimorfismo sexual nos sistemas musculoesqueléticos analisados; 3) levantar caracteres novos do sistema muscular e esquelético de espécies do grupo; e 4) propor uma hipótese filogenética para as espécies analisadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material examinado

A maior parte do material utilizado no presente trabalho foi cedido pelas seguintes instituições:

AS – Antonio Sebben, Laboratório de Anatomia Comparativa de Vertebrados da Universidade de Brasília, Brasília.

UFU – Museu de Biodiversidade do Cerrado, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.

CHUNB – Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília, Brasília

INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

MBML – Museu de Biologia Professor Mello Leitão, Espírito Santo.

MCP – Museu de Ciências da PUCRS, Porto Alegre.

MNRJ – Museu Nacional, Rio de Janeiro.

UFMT – Universidade Federal de Mato Grosso, Mato Grosso.

Também foram feitas excursões de coleta em Manaus (AM), nos campi da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA); e em Florianópolis (SC), no município de Bombinhas (Licença nº 27338-1 ICMBio). O principal método de captura utilizado foi busca ativa.

Foram analisadas 12 espécies do grupo *L. marmoratus*. Foram utilizadas apenas espécies brasileiras do grupo *L. marmoratus*, pois além da maioria das espécies descritas serem do Brasil, temos maior acesso ao patrimônio genético brasileiro. Além de espécies do grupo *L. marmoratus*, analisamos as duas outras espécies que compõem o subgênero *Lithodytes* (*L. lineatus* e *L. discodactylus*). Também foi realizado um levantamento preliminar de músculos de duas espécies do grupo *L. fuscus* (*L. fuscus* e *L. furnarius*). Estas espécies foram analisadas devido a sua disponibilidade. Espécies de outros grupos de *Leptodactylus* não puderam ser analisadas por uma limitação de tempo. A seguir comentamos sobre as espécies utilizadas e as suas localidades tipo:

Foram utilizadas populações de *Leptodactylus andreae* e *L. hylaedactylus* provenientes de Manaus, a qual não é a localidade tipo destas espécies. Apesar disto, comparações de canto destas populações com o canto das populações das localidades tipo destas espécies apontam grande similaridade acústica. Isto indica que as populações

de *L. andreae* (Ariadne Angulo, comunicação pessoal) e *L. hylaedactylus* (Menin *et al.*, 2009) de Manaus devam ser as mesmas espécies que as das localidades tipo.

Kwet & Angulo (2002) descreveram *Leptodactylus acaucaria* a sua localidade tipo como nordeste do Rio Grande do Sul e extremo sul de Santa Catarina. Entretanto Kwet (2007) reportou a ocorrência desta espécie também no sudeste e centro de Santa Catarina, e próximo a áreas continentais. No presente trabalho tivemos acesso às populações do Rio Grande Sul, próximo a localidade tipo, e as populações de Santa Catarina.

A localidade tipo de *Leptodactylus bokermanni* é Paranaguá, Paraná. Portanto é provável que a espécie utilizada no presente estudo, proveniente de Botucatu, São Paulo, consista em outra espécie, que chamaremos aqui de *Leptodactylus* cf. *bokermanni*.

De La Riva (1996) revalidou *Leptodactylus diptyx* com base em populações do Paraguai. *Leptodactylus glandulosus* Cope, 1887 (localidade tipo de Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brasil, próximo às cabeceiras do Rio Xingú) foi sinonimizado à *Leptodactylus diptyx* por Nieden (1923). No atual estudo foram utilizadas populações próximas da localidade tipo de *Leptodactylus glandulosus*, agora sinônimo de *Leptodactylus diptyx*.

Leptodactylus engelsi tem como localidade tipo o município de Florianópolis, Santa Catarina. Dados moleculares e acústicos (Antoine Fouquete, comunicação pessoal) indicam que as populações de Bombinhas, Santa Catarina, que foram utilizadas no presente trabalho, são as mesmas que as da localidade tipo.

Em Bombinhas, Santa Catarina, também tivemos acesso a populações com canto similar à *L. araucaria*, mas com um porte bem mais robusto (média de CRC de 22 mm contra 18.8 mm em *L. araucaria*). Dados moleculares indicam que esta espécie de Bombinhas seja diferente das demais espécies que ocorrem em Santa Catarina, e que chamamos, portanto de *L. sp.* “Bombinhas”.

Leptodactylus marmoratus tem como localidade tipo Brasil. Entretanto, populações da capital do Rio de Janeiro (Angulo, 2004) e de Boracéia, São Paulo (Heyer *et al.* 1990; Angulo, 2004) são geralmente associadas a esta espécie. No presente estudo foram utilizadas populações do Rio de Janeiro, localizadas próximas das populações do estudo de Angulo (2004).

A localidade tipo de *Leptodactylus martinezi* é Cachimbo, Pará. No presente estudo foram utilizados populações de Palmas e Mateiros, Tocantins. Apesar de não

termos certeza que as populações do Pará são as mesma que as do Tocantins, por enquanto acreditamos que seja a mesma espécie com base no padrão de coloração do dorso, que é característico nesta espécie.

Em relação à *Leptodactylus thomei* foram obtidos exemplares de Povoação, Espírito Santo que é a sua localidade tipo. Também tivemos acesso à paratipos desta espécie que confirmam a identificação das espécies utilizada neste trabalho.

O material examinado, que encontra-se listado abaixo, foi organizado no seguinte formato: abreviação institucional, número de catálogo, sexagem, uso miológico e/ou osteológico (com as abreviaturas “m” para músculo e “d” para diafanizados) e localidade.

Lista de material examinado

Espécies do subgênero *Lithodytes*

Leptodactylus andreae: CHUNB 67488 (♀, m, d), CHUNB 67489 (♂, m, d), CHUNB 67490 (♂, m, d), CHUNB 67491 (♂, m, d), AS 2938 (♂, m), AS 2939 (♂, m, d), AS 2942 ((♀, m), Manaus, Amazonas.

Leptodactylus araucaria: CHUNB 67498 (♂, m, d), CHUNB 67499 (♂, m, d), Santo Amaro da Imperatriz, Santa Catarina. CHUNB 67500 (♂, m, d), CHUNB 67501 (♂, m, d), CHUNB 67502 (♂, m, d), Bombinhas, Santa Catarina. MCP 10791 (♂, m), São Francisco de Paula, Aratinga, Rio Grande do Sul. MCP 10823 (♂, m), São José dos Ausentes, Rio Grande do Sul.

Leptodactylus cf. bokermanni: MNRJ 65378 (♂, m, d), MNRJ 65384 (♀, m, d), MNRJ 65382 (♀, m, d), MNRJ 70683 (♂, m, d), MNRJ 70685 (♂, m, d), MNRJ 70688 (♀, m, d), Fazenda Capão Bonito, Rubião Jr, Botucatu, São Paulo.

Leptodactylus diptyx: UFMT 501 (♂, m, d), UFMT 593 (♀, m, d), UFMT 7414 (♂, m, d), Rio Aricá, Cuiabá, Mato Grosso, e UFMT 7413 (♀, m, d), UFMT 0593 (♀, m, d), Parque Nacional da Chapada dos Guimarães, Cuiabá, Mato Grosso

Leptodactylus engelsi: CHUNB 67503 (♀, m, d), CHUNB 67504 (♀, m, d), CHUNB 67505 (♀, m, d), AS 2935 (♀, m, d), AS 2936 (♂, m, d), 2937 (♀, m, d), Bombinhas, Santa Catarina.

Leptodactylus hylaedactylus: CHUNB 67492 (♂, m, d), CHUNB 67493 (♂, m, d), CHUNB 67494 (♂, m, d), CHUNB 67495 (♂, m, d), CHUNB 67496 (♂, m, d) Manaus, Amazonas.

Leptodactylus marmoratus: CHUNB 67497 (♀, m, d), CHUNB 67510 (♂, m, d), CHUNB 67511 (♂, m, d) REGUA, Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro.

Leptodactylus martinezi: CHUNB 24437 (♀, m, d), CHUNB 24265 (♀, m, d), Palmas, Tocantins; CHUNB 53142 (♀, m, d), Colinas de Tocantins, Tocantins; CHUNB 27321 (♂, m, d), CHUNB 27323 (♂, m), CHUNB 42007 (♂, m), Mateiros, Tocantins.

Leptodactylus thomei: MBML 2528 (♀, m, d); MBML 2301 (♀, m, d), Povoação, Espírito Santo.

Leptodactylus lineatus: INPA 15510 (♀, m, d), INPA 15509 (♂, m, d), Porto Velho, Rondônia; INPA 26147 (♀, m, d), INPA 26165 (♂, m, d), Parque Nacional do Viruá, Roraima.

Leptodactylus discodactylus: INPA 20408 (♀, m, d), INPA 20407 (♂, m, d), Rio Uacari, Médio rio Juruá, Município de Carauari, Amazonas.

Leptodactylus sp. nov. (“Bombinhas”): CHUNB 67506 (♀, m, d), CHUNB 67507 (♀, m, d), CHUNB 67508 (♀, m, d), CHUNB 67509 (♂, m, d), AS 2940 (♀, m, d), AS 2941 (♀, m, d), Bombinhas, Santa Catarina.

Leptodactylus sp. nov. (“Piripiri”): CHUNB 61517 (♀, m, d); 61513 (♀, m, d), Piripiri, Piauí.

Leptodactylus sp. nov. (Giaretta e Kokubum, 2005): UFU 3643 (♀, m, d), UFU 3616 (♀, m), UFU 2154 (♂, m), UFU 3640 (♀, m), UFU 3619 (♀, m, d) UFU 2153 (♂, m, d), UFU 3628 (♀, m, d), UFU 3649 (♀, m, d), UFU 3630 (♀, m, d), UFU 3623 (♀, m, d), UFU 3636 (♀, m, d), UFU 3648 (♀, m, d), UFU 3647 (♀, m, d), Triângulo Mineiro, Uberlândia, Minas Gerais.

Espécies do grupo *L. fuscus*

Leptodactylus fuscus: AS 2040 (♂, m) Fazenda Santa Fé, Poconé, Mato Grosso; AS 2931 (♂, m, d), AS 2932 (♂), m, d, AS 2934 (♀, m, d) Fazenda Nossa Senhora da Aparecida, Monte Alegre, Goiás

Leptodactylus furnarius: AS 2358 (♂, m) Centro de Instrução e Adestramento de Brasília (CIAB) da Marinha, Brasília, DF; AS 2933 (♂, m, d), Poço Azul, Brasília, DF

2.2. Método de coloração com solução de Lugol

Para a visualização dos grupos musculares estudados foi utilizada a solução de Lugol, segundo Winokur e Hillyard (1992). Esta solução tem a capacidade de reagir com polissacarídeos das fibras musculares conferindo a elas coloração amarelo-avermelhada. Ela consiste em uma solução de iodo 1%, iodeto de potássio 2% e álcool etílico. Para a coloração, os espécimes foram submergidos em solução de Lugol por cerca de dois minutos, e descorados com imersão em álcool etílico 70% por cerca de cinco minutos.

2.3. Método de diafanização e dupla coloração

As análises osteológicas foram realizadas em espécimes diafanizados segundo o protocolo de Taylor e Van Dyke (1985). Este método consiste na coloração diferencial de ossos e cartilagens por meio de três etapas principais: clareamento da musculatura

com uma enzima e/ou hidróxido de potássio, coloração das cartilagens de azul com Azul de Alcian e coloração dos ossos de vermelho com Alizarina red S.

2.4. Estruturas analisadas e fotodocumentação

Foi analisada a morfologia de sistemas musculoesqueléticos. Estes sistemas foram seleccionados devido à escassez de estudos desta natureza com espécies do grupo *L. marmoratus*. Os seguintes músculos foram descritos quanto à sua inserção, origem e morfologia: músculos superficiais da mandíbula seguindo a terminologia de Tyler (1971); músculos hiolaríngeos segundo Trewavas (1933); e músculos linguais segundo Horton (1982) e Duellman e Trueb (1986). Estes sistemas musculares foram escolhidos por sua importância filogenética relatada para outros grupos de anuros.

As terminologias e estruturas utilizadas para as caracterizações osteológicas foram: Ponssa e Heyer (2007) e Trueb (1993) para a osteologia craniana; Ponssa e Heyer (2007) para a cintura escapular e coluna vertebral; Fabrezi (1992) para a osteologia carpal; Fabrezi (1993) para a osteologia do tarso e Trewavas (1933) para o aparato hiolaríngeo. Estes sistemas osteológicos são comumente utilizados na sistemática filogenética de anuros.

Foram realizadas fotodocumentações com máquina digital *Leica D-LUX 3* acoplada a um estereomicroscópio *Leica S6*. O programa *Combine Z5* também foi utilizado para sobreposição de imagens e obtenção de foco em todas as estruturas desejadas.

2.5. Caracteres

Os caracteres e seus estados foram descritos segundo Sereno (2007), que descreve uma base lógica para a construção dos caracteres e seus estados, permitindo padronizar e simplificar a formulação dos caracteres. Hennig (1966) define caractere como uma “série de transformação” que está correlacionada por um evento histórico. Estado de um caractere, por sua vez, é definido como uma fase discreta em uma série de transformação (Hennig, 1966 *apud*. Grant e Kluge, 2004). Segundo Sereno (2007) caracteres deve ser variáveis independentes e os estados condições mutuamente exclusivas de um caractere.

Sereno (2007) definiu quatro componentes que podem participar ou não na formação de um caractere: localizadores primários, localizadores secundários, variáveis e qualificadores das variáveis. Os localizadores se referem ao local aonde encontramos as diferenças encontradas, e são divididos em primários (L_1) e secundários (L_2). O localizador primário especifica a estrutura que apresenta variação e o secundário indica a localização mais geral da estrutura de interesse. Mais de um localizador secundário pode ser utilizado para a melhor definição da estrutura em questão. Ambos os tipos de localizadores são separados por vírgulas, L_2 vindo antes de L_1 , de forma a criar uma relação de dependência do mais geral para o mais específico.

Após os localizadores podemos colocar as características que variam como tamanho, formato, número, etc., os quais são chamados de variáveis (v). Os caracteres também podem estar relacionados a alguma outra estrutura, a qual também é incluída no caractere e que é chamada de qualificador da variável (q). A seguir exemplificamos a estruturação proposta por Sereno (2007).

L_2 L_1 v q

Maxila, processo anterior, comprimento relativo ao processo posterior: menor (0); maior (1)

2.6. Análise cladística

Considerando o grupo *L. marmoratus* como monofilético, realizamos uma análise cladística para inferir uma hipótese de relacionamento entre as espécies do grupo *L. marmoratus*. Foram utilizados 14 táxons, 12 como grupo interno e dois como grupo externo. Como grupo externo, utilizamos os táxons *Leptodactylus lineatus* e *Leptodactylus discodactylus*, conforme as hipótese filogenéticas prévias de Heyer (1974), Angulo (2004) e Ponssa (2008), que consideraram essas espécies grupos irmão de *L. marmoratus*. A matriz de dados foi construída no programa Mesquite (Maddison e Maddison, 2011) e a análise de parcimonia realizada nos programas TNT 1.1 Goloboff *et al.* 2008). Foram empregadas buscas exaustivas que conferem garantia que todas as árvores mais parcimoniosas foram encontradas. Ele é recomendado para árvores com menos de 25 táxons (Kitching *et al.*, 1998). Como medida do grau de confiança dos clados foi utilizado o suporte de Bremer ou Goodman-Bremer (Goodman *et al.*, 1982;

Bremer, 1988). Este método consiste em calcular a diferença no número de passos entre a árvore mais parcimoniosa que não apresenta um clado e a árvore mais parcimoniosa. Este suporte foi gerado utilizando o *Decay Index PAUP file* do MacClade 4.10 (Maddison e Maddison, 1992), o qual foi em seguida executado no PAUP 4.0b1 (Swofford, 1998). Também foi calculado o suporte de *bootstrap* (Felsenstein, 1985). Este é um método alternativo aonde é aplicada perturbação aos dados, como deleção e pesagem randômica de caracteres, criando pseudoréplicas. O grau de conflito de cada pseudoréplica é depois observado em uma árvore de consenso de regra da maioria. O suporte de *bootstrap* foi calculado no PAUP 4.0b1 utilizando 10000 pseudoreplicações. A edição do cladograma foi realizada com o programa Winclada 1.00.08 (Nixon, 1999, 2002).

Todos os caracteres do presente estudo foram tratados com pesos iguais. Pesagem de caracteres é considerada um método subjetivo por muitos cladistas, os quais acreditam que ela deve ser evitada ao máximo, e usada apenas quando o exame crítico de evidência de parcimônia falharem (Wheeler, 1986). Eldredge e Cracraft (1980) sugerem que quando os dados são corretamente analisados não há motivo para pesagem. Os autores também comentam que a confusa questão de pesagem pode ser evitada reconhecendo que todos os caracteres não convergentes são relevantes para definir grupos monofiléticos em algum nível. Wheeler (1986) comenta que o grande problema de pesagem é a ausência de uma medida objetiva sobre o que realmente é uma “unidade de caractere” para um dado táxon. Mayr (1969) rejeitam pesagem *a priori* e comentam que a não confiabilidade de um caractere em um táxon não o torna inutilizável em outro táxon. Wheeler (1986), por sua vez, discute que esquemas *a priori* como os defendidos por Hecht e Edwards (1976), são responsáveis pela introdução de fatores subjetivos na análise antes mesmo de haver uma indicação de erro analítico, como homoplasia. Wheeler (1986) também recomenda que inicialmente seja dado um peso igual a todos os caracteres, evitando-se assim pesagens *ad hoc*. Isto permite que os dados se resolvam objetivamente e que os erros analíticos apareçam. Caso após a re-análise dos caracteres ainda haja um conjunto confuso de dados pode-se recorrer à pesagem diferencial.

No presente estudo, todos os caracteres foram analisados de forma não ordenada. Um dos poucos trabalhos que fizeram uma comparação entre os méritos relativos de caracteres ordenados e não ordenados foi o de Hauser e Presch (1991). Estes autores afirmam que “se é aceito que o critério mais confiável para determinar a seqüência evolutiva de um caractere multiestado é o próprio cladograma..., então hipóteses de

ordem são desnecessários”. Os resultados destes autores indicam que caracteres ordenados não necessariamente resultam em mais resolução que caracteres não ordenados. Uma diferença entre caracteres ordenados e não ordenados é a sua relação com o tamanho da árvore. Uma árvore mais parcimoniosa baseada em caracteres ordenados será do mesmo tamanho ou geralmente maior que aqueles baseados nos mesmos caracteres sob tratamento não ordenado, o que é utilizado por alguns autores como motivo para evitar ordenamentos (Hauser e Presch, 1991). Ultimamente tem ocorrido uma preferência por caracteres não ordenados (Slowinski, 1993). Isto parece ser motivado pela convicção de que caracteres ordenados podem acarretar em um tipo de erro que deve ser evitado, que é o de conectar de forma errada estados de caracteres (Slowinski, 1993). Page *et al.* (1992), entretanto, aponta que informações importantes são perdidas quando um ordenamento correto é descartado. Ao realizar testes empíricos com conjuntos de dados ordenados e não ordenados, Slowinski (1993) relata que nenhum método pode ser rejeitado com base em congruência, ou seja, ambos os métodos são passíveis de recuperar relacionamentos corretos. Como no presente estudo não houve diferença entre ordenar ou não caracteres, estes não foram ordenados.

Quanto ao tipo de otimização foi utilizado ACCTTRAN, entretanto examinou-se, caractere por caractere, para ver se havia necessidade de utilizar DELTRAN para de preservar a homologia primária dos caracteres. De Pinna (1991) afirma que ACCTTRAN favorece reversões sobre paralelismo e que, portanto preserva melhor a conjectura de homologia primária. Portanto na ausência de evidência contrária, otimizações ambíguas são melhor resolvidas em favor de perdas secundárias (reversões) ao invés de ganhos paralelos de estruturas complexas (De Pinna, 1991). No entanto Agnarsson e Miller (2008) comentam que é preciso examinar quais caracteres são primitivos ou derivados tanto globalmente, *e.g.* na raiz da árvore, como localmente, *e.g.* no(s) nó(s) onde a otimização dos estados de caracteres é ambígua. Quando ausência é o caractere derivado podem ter casos em que a otimização DELTRAN preserva a homologia do caractere, enquanto a ACCTTRAN sugere uma nova origem, mais improvável, que não favorecendo a homologia do caractere (Agnarsson e Miller, 2008).

3. RESULTADOS

3.1. MIOLOGIA

Removendo-se a pele que cobre a região intermandibular, podemos dividir os músculos quanto a sua localização em uma camada superficial, uma intermediária e uma profunda. Os músculos superficiais compreendem o m. submental, o m. intermandibular, os elementos suplementares do m. intermandibular e o m. interhióideo. Os músculos intermediários consistem no m. geniohióideo medial e m. geniohióideo lateral. Os músculos profundos, por sua vez, podem ser divididos nos músculos relacionados à movimentação do hióide e nos que movimentam a língua. Os músculos hióideos consistem no m. esternohióideo, no m. petrohióideo anterior, nos mm. petrohióides posteriores e no m. omohióideo. Os músculos linguais são o m. genioglosso basal, m. genioglosso medial e o hioglosso.

Músculos superficiais

O **m. submental (S)** localiza-se anteriormente na mandíbula. Apresenta formato oval, ausência de fenda mediana, e fibras dispostas horizontalmente (Fig. 3). Origina-se de cada par do mentomenckeliano, dentário e cartilagem de Meckel.

O **m. intermandibular (Im)** consiste em uma fina camada de músculo que cobre ventralmente a maior parte da mandíbula (Fig. 3). Origina-se do tecido bucal localizado lateralmente à mandíbula e se insere em uma aponeurose transparente que separa o músculo medialmente. Esta aponeurose variou intra-especificamente na sua largura e forma.

Os **elementos suplementares do m. intermandibular (E)** são do tipo anterolateral descrito por Tyler (1971). São pequenos músculos triangulares, que se originam de forma pontual da superfície do m. intermandibular, próximo à mandíbula e se divergem de forma similar a um leque sobre o m. intermandibular, até alcançar a borda posterior do m. submental. As espécies do grupo *L. marmoratus* diferiram quanto a este músculo de *L. lineatus*, *L. fuscus* e *L. furnarius*. Enquanto que no grupo *L. marmoratus* estes elementos alcançam apenas a borda posterior do m. submental, nas três espécies mencionadas este músculo investe sobre o m. submental, cobrindo as suas laterais e expondo apenas a região medial do m. submental que fica com aspecto de V (Fig. 4).

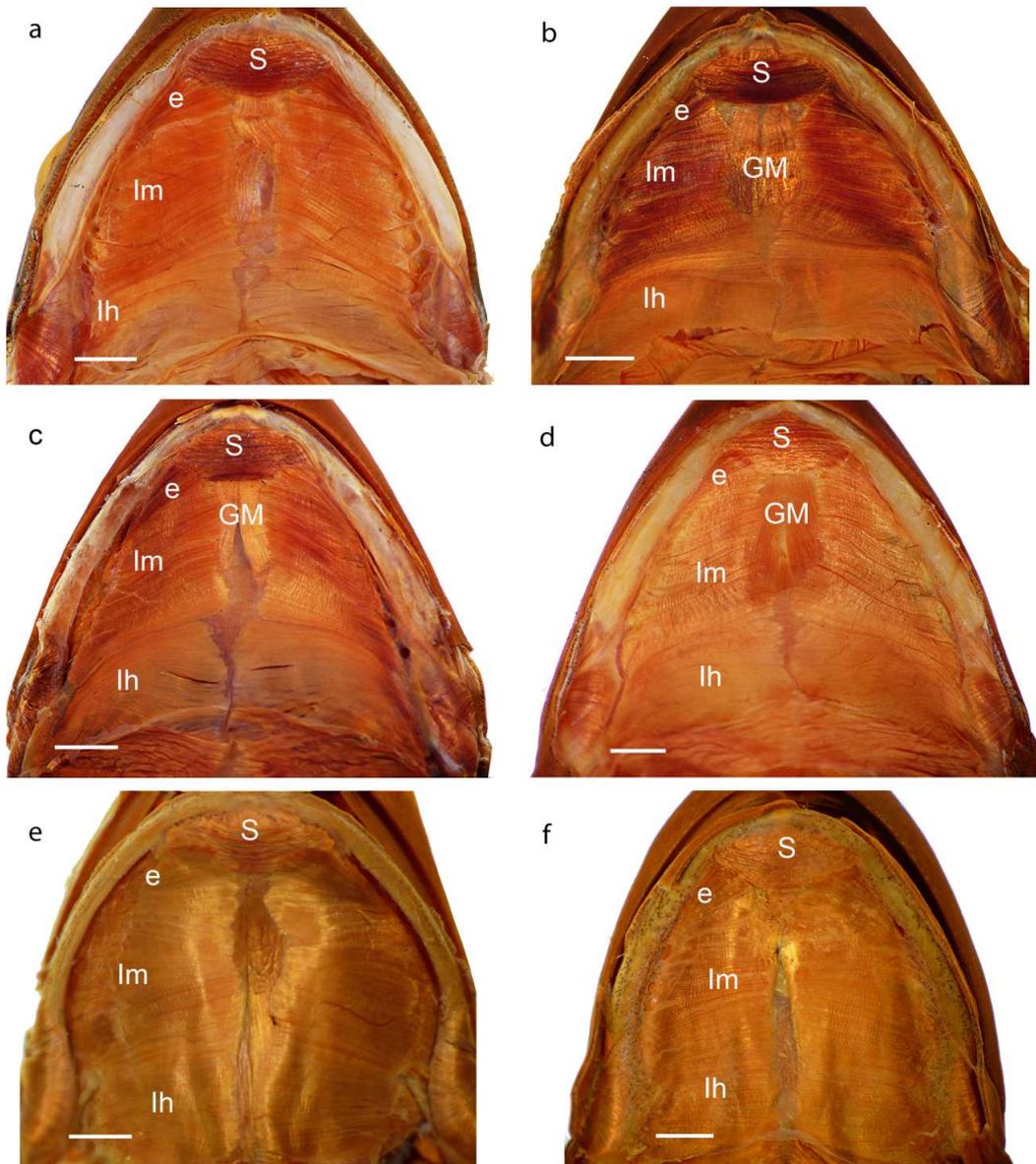


Figura 3. Vista ventral dos músculos superficiais da região gular mostrando a variação intraespecífica encontrada na forma e largura da aponeurose mediana. a e b, machos de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM); c e d, machos de *Leptodactylus hylaedactylus* de Manaus (AM); e e f, fêmeas de *Leptodactylus* sp. de Uberlândia (MG). Abreviaturas: e, Elementos suplementares do m. intermandibular; GM, m. geniiohióide medial; Ih, m. interhióide; Im, m. intermandibular; S, m. submental. Escala: 1mm.

O **m. interhióide (Ih, Fig 3)** é uma continuação posterior ao intermandibular. Surge na curvatura posterolateral do processo hial, próximo a sua inserção na região posterolateral do crânio, e insere-se em uma aponeurose mediana. Nos machos, a região

posterior deste músculo forma o saco vocal que apresenta fibras frouxas que se curvam posteriormente e se inserem na forma de uma linha horizontal acima do esterno.

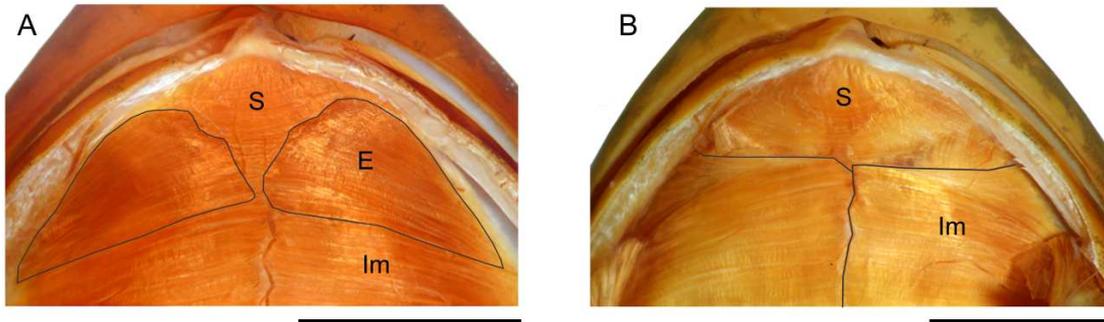


Figura 4. Vista ventral de músculos superficiais de *Leptodactylus fuscus* de Monte Alegre (GO). A, elemento suplementar (E) recobrendo as laterais do m. submental (S); B, elemento suplementar (E) removido, expondo o limite anterior do m. intermandibular (Im). Escala: 4mm.

Músculos intermediários

O **m. geniohióide medial (GM)** se origina do osso mais medial e anterior da mandíbula, o mentomenckeliano, continuando posteriormente até se inserir na superfície posterior do m. hioglosso. Três condições foram encontradas para as espécies analisadas: (1) uma faixa contínua de músculo, dividida somente na sua extremidade posterior; (2) duas faixas separadas do músculo que expõem o m. hioglosso localizado abaixo (Fig 5); (3) duas faixas amplamente separadas e sinuosas do m. geniohióide medial (Fig 5).

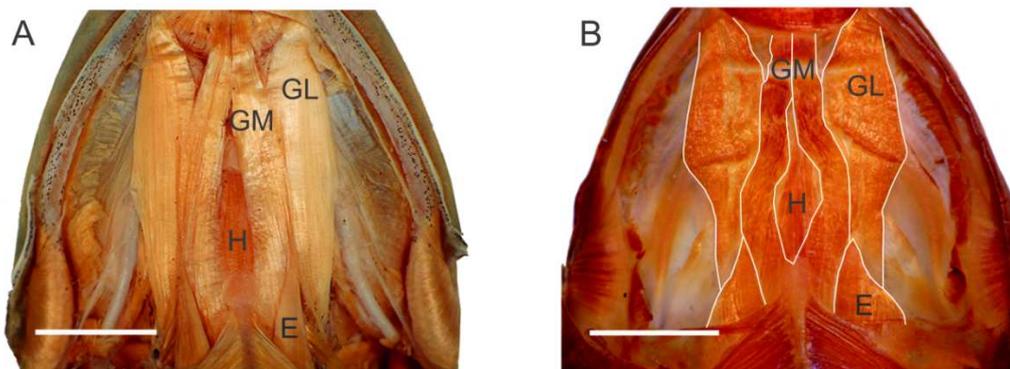


Figura 5. Vista ventral dos músculos intermediários da região gular de: A. *Leptodactylus* sp. de Uberlândia (MG), fêmea, com um m. esternohióide delgado; B, *Leptodactylus marmoratus* Rio de Janeiro (RJ), fêmea, com um m. esternohióide largo e dilatado latero-lateralmente. Abreviaturas: E, m. esternohióide; H, m. hioglosso; GL, m. geniohióide lateral; GM, m. geniohióide medial. Escala: 2mm.

Espécimes de *L. andreae*, *L. araucaria* e *L. martinezi* foram polimórficas em relação a este músculo, apresentando a primeira e a segunda condição em uma mesma população. Em *L. cf. bokermanni*, *L. diptyx*, *L. sp. "Piripiri"* e *L. lineatus* foi encontrada a primeira condição, ou seja, o m. geniohióide medial contínuo medialmente. Em *L. hylaedactylus*, *L. engelsi*, *L. sp. "Bombinhas"*, *L. thomei* e *L. sp. "Uberlândia"* foi encontrada a segunda condição deste músculo. *Leptodactylus marmoratus*, por sua vez, apresentou a terceira condição, em que o m. geniohióide medial apresenta duas faixas amplamente separadas e sinuosas. Entretanto, é possível que a análise de mais indivíduos de cada espécie indique a presença do polimorfismo da primeira e segunda condição em uma mesma espécie. Por conta disto, estas diferenças não foram codificadas para as análises filogenéticas.

O **m. geniohióide lateral (GL)** é um músculo par, com origem na porção anterior da mandíbula, adjacente à inserção do m. submental. É dividido em uma porção externa que se insere no processo posterolateral do hióide, e uma porção interna que se insere na superfície posterior no processo posteromedial (Fig. 5).

Dimorfismo sexual (Fig. 7) – nos machos e fêmeas das espécies do grupo *L. marmoratus* analisadas, o m. geniohióide lateral apresentou uma distinção quanto ao sexo. Nos machos, a porção externa do m. geniohióide lateral é geralmente robusta, com a sua margem lateral distintamente expandida lateralmente, de forma que se insere na porção lateral do processo hial do hióide. Nas fêmeas, a margem lateral do m. geniohióide lateral não está expandida, não aderindo ao processo hial como nos machos. Este dimorfismo foi observado em oito espécies do grupo *L. marmoratus*: *L. andreae* (2♀, 5♂), *L. cf. bokermanni* (3♀, 3♂), *L. diptyx* (3♀, 2♂), *L. engelsi* (5♀, 1♂), *L. hylaedactylus* (1♀, 5♂), *L. marmoratus* (1♀, 2♂), *L. martinezi* (3♀, 3♂), *L. sp. "Bombinhas"* (3♀, 1♂) e *L. sp. "Uberlândia"* (11♀, 2♂). Nas demais espécies do subgênero *Lithodytes* e do grupo *L. fuscus* analisadas não encontramos evidências desse dimorfismo sexual.

Músculos da língua

O **m. hioglosso (H)** é um músculo da língua que tem origem na epífise distal dos processos posteromediais. Ao atingir a placa hióide este músculo se torna ímpar e se estende verticalmente sobre a placa até se inserir na língua. O m. hioglosso se divide em cerca de quatro pares de segmentos menores que se intercalam com os elementos do m. genioglosso (Fig. 6). Os pares laterais são anteriores e mais ventrais, enquanto que os mediais são posteriores e mais dorsais. Nas espécies do grupo *L. marmoratus* o m. hioglosso se segmenta e se interdigita com o m. genioglosso medial acima ou na altura dos processos anteriomediais do hióide, a porção mais anterior do hióide. Encontramos diferenças entre as espécies do grupo *L. marmoratus* e duas espécies do grupo *L. fuscus* analisadas, quanto a este músculo. Em *L. fuscus* e *L. furnarius* os segmentos do m. hioglosso se dividem e se interdigitam com o m. genioglosso medial mais posteriormente, na altura do processo alar do hióide (Fig. 10).

O **m. genioglosso basal (Gb)** é um músculo par, robusto, curto, com formato triangular, que se origina na margem lingual da mandíbula, dos mentomenckelianos e dos dentários. Sua margem posterior é curvada, inserindo-se na língua.

O **m. genioglosso medial (Gm)** é dorsal ao m. genioglosso basal, com origem próxima à sínfise mandibular. Se estende posteriormente, de forma breve, e se intercala com os elementos do m. hioglosso antes de se inserir na língua.

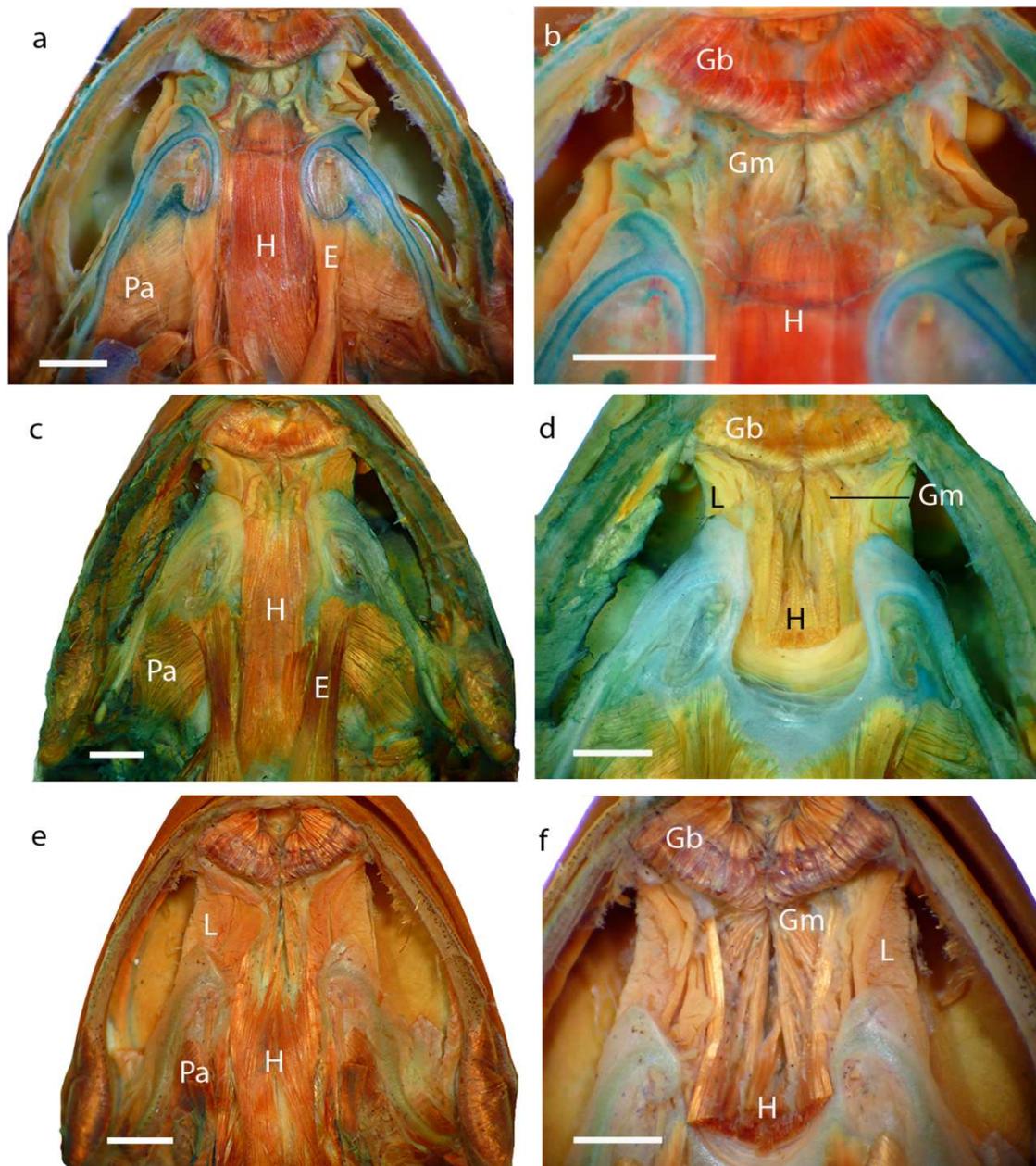


Figura 6. Vista ventral dos músculos da língua. a, b: macho de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM); c, d: macho de *Leptodactylus hylaedactylus* de Manaus (AM); e, f: fêmea de *Leptodactylus* sp. de Uberlândia (MG). (E) m. esternohióide; (Gb) m. geniohióide basal; (Gm) m. geniohióide medial; (H) m. hioglosso; (L) língua; (Pa) m. petrohióide anterior. Escala: 1mm.

Músculos do hióide

O **m. esternohióide (E)** é um músculo par longitudinal, com uma porção lateral robusta contínua com o m. reto abdominal, e uma porção interna delgada com origem no esterno (Fig. 9). Tem uma inserção ampla nas regiões lateral e posteromediais da placa hióide. Lateralmente as fibras deste músculo se agrupam em um conjunto cilíndrico, enquanto que medialmente as fibras se estendem como uma fina camada sobre a placa hióide. O par se encontra medialmente na placa. Este músculo se manteve constante para as espécies do grupo *L. marmoratus*, exceto em *L. marmoratus* onde a porção externa contínua com m. reto abdominal é dilatada latero-lateralmente. Em *L. discodactylus* e nas espécies do grupo *L. fuscus* analisadas, o esternohióide tem inserção na lateral da placa hióide (Fig. 10).

O **m. petrohióide anterior (Pa)** é um músculo par, robusto, com origem na superfície ventral da região ótica do crânio e inserção no processo alar e na margem lateral da placa hióide (Fig. 8).

Dimorfismo sexual (Fig. 8) - O m. petrohióide anterior mostrou dimorfismo sexual quanto a sua relação com o processo hial do hióide. Nos machos analisados, este músculo é robusto e lateralmente direcionado de forma a aderir na porção medial do processo hial do hióide. Já nas fêmeas este músculo não é lateralmente expandido, encontrando-se afastado do processo hial. Este dimorfismo sexual foi observado em nove espécies do grupo *L. marmoratus*: *L. andreae* (2♀, 5♂), *L. cf. bokermanni* (3♀, 3♂), *L. diptyx* (3♀, 2♂), *L. engelsi* (5♀, 1♂), *L. hylaedactylus* (1, 5♂), *L. marmoratus* (1♀, 2♂), *L. martinezi* (3♀, 3♂), *L. sp. "Bombinhas"* (3♀, 1♂) e *L. sp. "Uberlândia"* (11♀, 2♂).

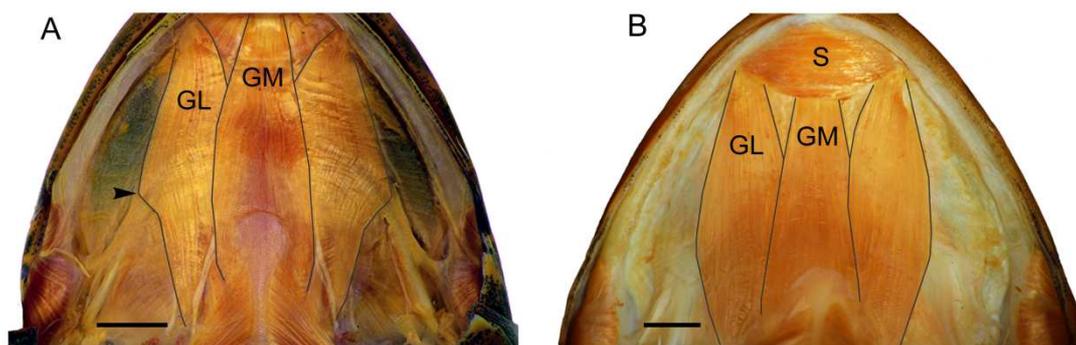


Figura 7. Dimorfismo sexual no m. geniohióide lateral. A, Macho de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM) com a margem lateral do m. geniohióide lateral expandida lateralmente para aderir ao processo hial do hióide (cabeça de seta); B, Fêmea de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM) com a margem lateral do m. geniohióide sem uma expansão lateral distinta para adesão ao processo hial. Abreviaturas: GL, m. geniohióide lateral; GM, m. geniohióide medial; S, m. submental. Escala: 1mm.

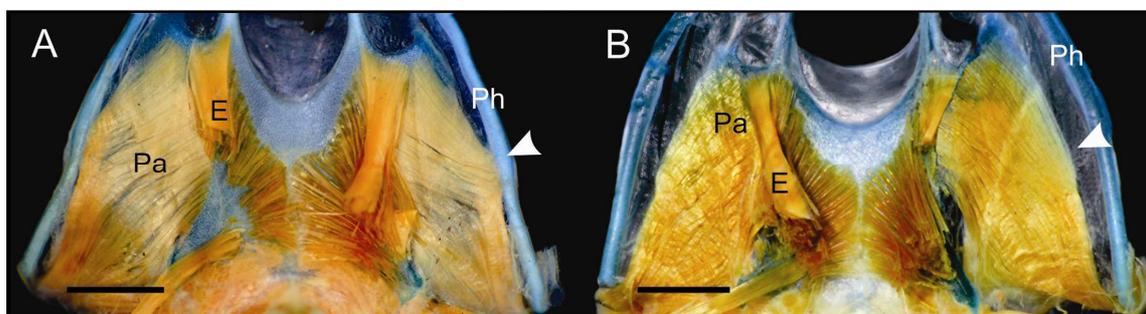


Figura 8. Dimorfismo sexual do m. petrohióide anterior. A, Macho de *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM), mostrando a inserção lateral do m. petrohióide anterior no processo hial (cabeça de seta branca); B, Fêmea de *L. andreae* de Manaus (AM), mostrando o afastamento do m. petrohióide anterior em relação ao processo hial (cabeça de seta branca); Abreviaturas: Pa, m. petrohióide anterior; E, m. esternohióide; Ph, Processo hial do hióide. Escala: 1mm.

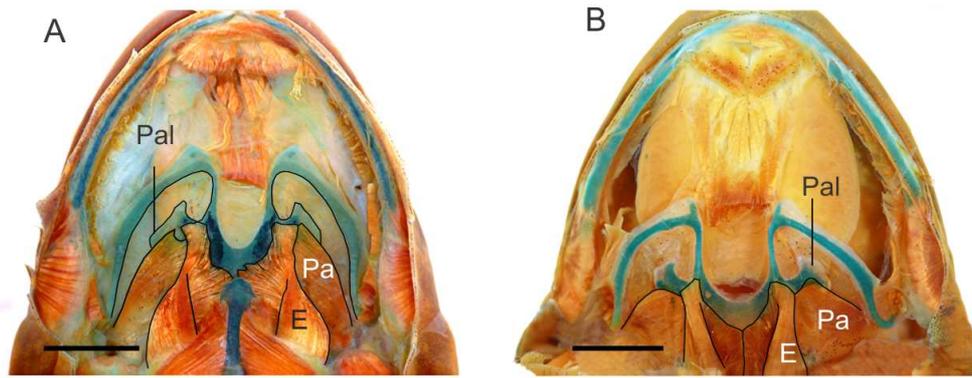


Figura 9. Vista ventral de A, *Leptodactylus marmoratus* do Rio de Janeiro (RJ), fêmea, com o m. esternohióide dilatado lateralmente e processo alar do hióide largo; B, *Leptodactylus* sp. de Piripiri (PI), fêmea, com o m. esternohióide reto e processo alar do hióide pequeno. Abreviaturas: Pa, m. petrohióide anterior; Pal, processo alar do hióide; E, m. esternohióide. Escala: 2mm.

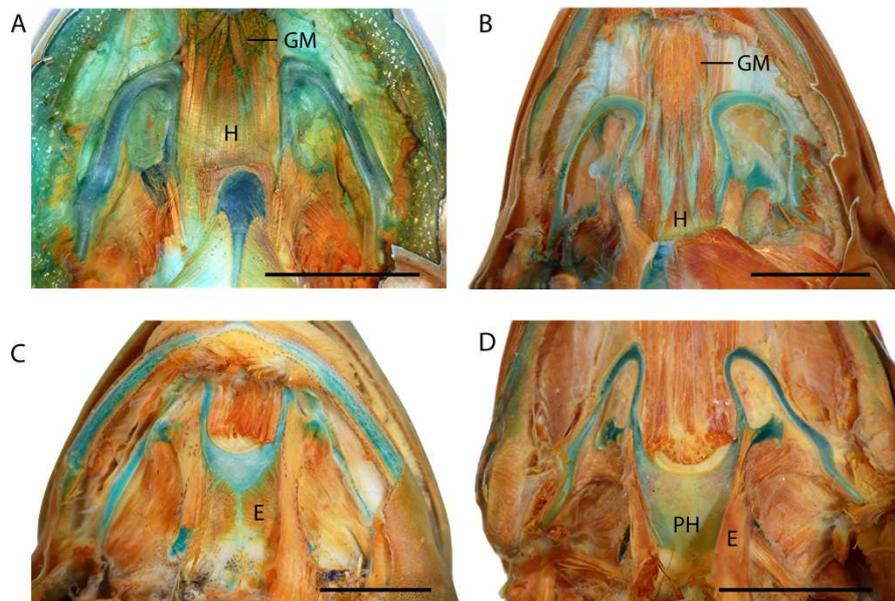


Figura 10. Vista ventral de músculos da língua, evidenciando diferenças encontradas entre (A) *Leptodactylus lineatus* (do subgênero *Lithodytes*) de Porto Velho (RO) e (B) *L. fuscus* de Monte Alegre (GO); e vista ventral mostrando a inserção lateral e posteromedial do m. esternohióide (E) em *L. lineatus* (C) e a inserção apenas lateral do m. esternohióide em *L. furnarius* (D). Abreviaturas: E, m. esternohióide; GM, m. genioglosso medial; H, m. hioglosso; PH, placa hióide. Escala: 4mm.

Os **mm. petrohióides posteriores (Pp)** se originam na capsula ótica adjacente à origem do m. petrohóide anterior (Fig. 11). A maioria das espécies apresentou três mm. petrohióides posteriores. Em *L. cf. bokermanni* um exemplar apresentou dois mm. petrohióides posteriores, enquanto nos outros foram encontrados três. Os mm. petrohióides posteriores I, II e o II se inserem, respectivamente, nas regiões anterior, medial e posterior do processo posteromedial do hióide.

Músculos da laringe (Fig. 11)

O **m. dilatador da laringe (D)** é um músculo par, que se sobrepõe aos constritores da laringe. Sua origem se dá na superfície dorsal e extremidade posterior do processo posteromedial, e é sobreposta dorsalmente pelo terceiro m. petrohóide posterior. Tem inserção na borda da abertura valvar dos aritenóides.

O **m. constritor externo da laringe (CE)** é um músculo par que recobre a laringe anterolateralmente, com origem no processo posteromedial, anterior a origem do m. dilatador. Sua inserção é anterior à abertura valvar os aritenóides.

O **m. constritor anterior da laringe (CA)** tem origem posterior à abertura valvar dos aritenóides, e se estende horizontalmente sobre o corpo cartilaginoso do aritenóide para se inserir de forma larga e lequeforme na membrana hio-aritenóide e lateral interna dos processos posteromediais

O **m. constritor posterior da laringe (CP)** é um músculo par, posterior ao constritor anterior, que circunda os aritenóides lateralmente. Origina-se por um tendão do *pulvinar vocale* inferior dos aritenóides, e insere-se, após o constritor externo, na face anterior dos aritenóides. É sobreposto na sua porção medial pelo processo muscular do cricóide.

Na Tabela 1 temos um resumo das inserções e origens de todos os músculos analisados.

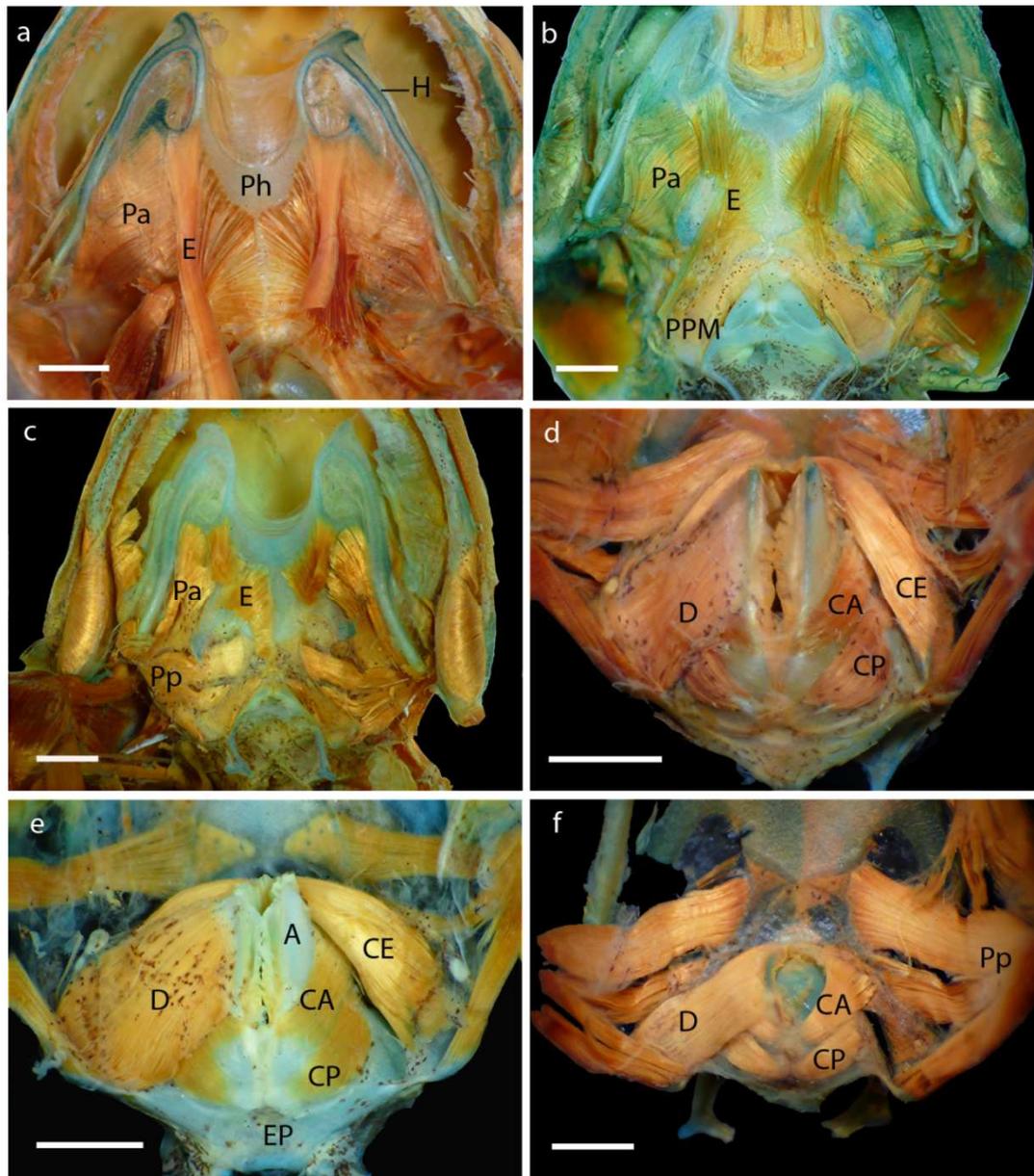


Figura 11. Músculos hiolaríngeos de espécies do grupo *Leptodactylus marmoratus*. a: vista ventral do hióide de um macho de *L. andreae* de Manaus (AM); b: vista ventral do hióide de um macho de *L. hylaedactylus* de Manaus (AM); c: vista ventral do hióide de uma fêmea de *Leptodactylus* sp. de Uberlândia (MG); d: vista dorsal da laringe um macho de *L. andreae* de Manaus (AM); e: vista dorsal da laringe de um macho de *L. hylaedactylus* de Manaus (AM); f: vista dorsal da laringe de uma fêmea de *Leptodactylus* sp. de Uberlândia (MG). (A) aritenóide; (CA) m. constritor anterior da laringe; (CE) m. constritor externo da laringe; (CP) músculo constritor posterior da laringe; (D) m. dilatador da laringe; (E) m. esternohióide; (EP) processo esofágico da laringe; (H) processo hial; (Pa) m. petrohióide anterior; (Ph) placa hióide; (Pp) mm. petrohióide posteriores; (PPM) processo posteromedial do hióide. Escala: 1mm.

Tabela 1. Origem e inserção dos músculos superficiais, intermediários e profundos (músculos hiolaríngeos e linguais) da região intermandibular da mandíbula de espécies do grupo *Leptodactylus marmoratus*.

Músculos ventrais do crânio	Origem	Inserção
1. m. submental (S)	mentomenckeliano e dentário	mentomenckeliano e dentário
2. m. intermandibular (Im)	mandíbula	aponeurose medial
3. m. interhióide (I)	curva do processo hial	aponeurose medial
4. m. geniohióide medial (Gm)	mentomenckeliano	m. hioglosso
5. m. geniohióide lateral (Gl)		
- porção externa	mandíbula	p. posterolateral
- porção interna	mandíbula	p. posteromedial
6. m. petrohióide anterior (Pa)	região ótica do crânio	p. alar e borda da placa hióide.
7. m. m. petrohióide posteriores (Pp)	região ótica do crânio	p. posteromedial
8. m. esternohióide (E)	m. reto abdominal e esterno	placa hióide
9. m. hioglosso (H)	p. posteromedial	língua
10. m. genioglosso basal (Gb)	mentomenckeliano e dentário	língua
11. m. genioglosso medial (Gm)	mentomenckeliano e dentário	língua
12. m. dilatador da laringe (D)	p. posteromedial	borda da fenda aritenóide
13. m. constritor externo da laringe (CE)	p. posteromedial	anterior a à abertura valvar dos aritenóides
14. m. constritor anterior da laringe (CA)	posterior à abertura valvar dos aritenóides	membrana hio-aritenóide e lateral interna dos processos posteromediais
15. M. constritor posterior da laringe (CP)	<i>pulvinar vocale</i> inferior	face anterior dos aritenóides

3.2. OSTEOLOGIA

A seguir descrevemos as diferenças osteológicas encontradas entre as espécies do grupo *L. marmoratus*. Ao longo da descrição também são relatadas estruturas sexualmente dimórficas.

CRÂNIO

Pré-maxila: é um osso par, localizado anteromedialmente, composto de três processos: o alar, o dentífero e os palatinos. O processo alar tem aspecto retangular, e é dorsalmente direcionado. Sua extremidade dorsal pode ser estreita, curvada lateralmente ou reta. Sua margem lateral pode ou não apresentar uma espícula afilada ou robusta (Fig 13). Os processos palatinos são afilados e de tamanhos iguais. O número de dentes de cada processo dentífero variou entre 8 e 11.

Maxila: é um osso par, longo, com a sua extremidade anterior afilada a qual sobrepõe a lateral do processo dentífero do pré-maxilar. O número de dente de cada par do *pars dentalis* variou entre 30 e 48. O *pars facialis* é distinto, com formato retangular, limitado a região entre o pré-maxilar e os neopalatinos.

Mandíbula: o mentomenckeliano, localizado anteromedialmente na mandíbula, tem a sua extremidade medial direcionada dorsalmente e fundido ao dentário, enquanto que a sua extremidade lateral é distinguível, adjacente à cartilagem de Meckel. Esta cartilagem é parcialmente coberta pelo dentário. Estende-se ventralmente sobre o anguloesplênico até a região de flexão posterior deste, onde passa então a percorrer a face dorsal deste osso até a sua extremidade distal. O anguloesplênico é o componente principal da mandíbula, apresentando um processo coranóide retangular estreito.

Cápsula nasal: a cápsula nasal é dorsalmente delimitada pelo *tectum nasi*, ventralmente pelo *solum nasi* e medialmente pelo *septum nasi*. Nas fêmeas estas estruturas permanecem como placas cartilaginosas (Fig. 12), podendo apresentar granulações ósseas na região anterior do *tectum nasi*, provavelmente relacionados à idade dos espécimes (Ponssa e Barrionuevo, 2010). Nos machos, por sua vez, o *tectum nasi*, o *septum nasi* e a maior parte do *solum nasi* são ossificados e co-ossificado às estruturas ósseas circundantes, como o esfenoetmóide dorsalmente e os vômeres ventralmente.

Nasais: são ossos pares, com aspecto triangular, que sobrepõem o *tectum nasi*. Sua margem lateral pode ser sinuosa ou não. Sua extremidade anterior geralmente apresenta expandida anteriormente, entretanto em algumas espécies ele é reto. Sua margem medial pode ser longa, com comprimento similar ao da margem posterior, ou curta, com comprimento menor que o da sua margem posterior. A separação entre o par de nasais pode ser curta, menor que a distancia entre si dos processos alares; média, com largura similar à largura entre si dos processos alares; ou larga, maior que a separação entre si dos processos alares. Medialmente o par pode ser largamente, moderadamente ou pouco separado. O processo maxilar pode ser extenso, alcançando a margem da maxila como em *L. marmoratus* e *L. sp.* “Bombinhas”, ou mais curto, mantendo-se distanciado da maxila.

Esfenoetmóide: é um osso impar. Nos machos este osso é anteriormente co-ossificado ao *tectum nasi* e aos nasais (Fig. 12). Nas fêmeas ele permanece como uma estrutura individualizada que pode variar no seu grau de desenvolvimento conforme a espécie. Se mostrou pouco desenvolvido anteriormente em algumas espécies, ocupando apenas $\frac{1}{4}$ da região da cápsula nasal. Em outras é moderadamente desenvolvido, ocupando a metade da cápsula nasal, com a sua porção anterolateral estreita ou larga. Em uma espécie apresentou-se bem desenvolvida com a sua extremidade anterior atingindo a extremidade anterior da capsula nasal. A região posterior é pouco extensa nas fêmeas, finalizando anteriormente ao forâmen óptico. A borda posteroventral é mais extensa que a posterodorsal. Se estende posteriormente e se co-ossifica com o proótico nos machos

Orbitoesfenóide (Fig 12): se localiza entre o esfenetmóide e o proótico, circundando o forâmen óptico, e sendo distinguível apenas nas fêmeas examinadas, pois nos machos está ossificado e fusionado ao esfenetmóide e proótico. Segundo Maglia *et al.* (2007), quando a região entre o esfenetmóide e o proótico é cartilaginosa ela é denominada orbitoesfenóide. No entanto, ela regioa pode ter um aspecto transparente a qual consiste em um tecido conjuntivo indiferenciado. No presente estudo, esta região corou para cartilagem na fêmea de uma espécie (*L. andreae*), permanecendo como um espaço transparente nas fêmeas das demais espécies. Por enquanto, resolvemos chamar esta região de orbitoesfenóide, supondo que na maioria das espécies essa estrutura apenas não corou para corretamente. Entretanto estudos mais refinados devem ser realizados para definir a real composição desta região.

Frontoparietais: são ossos pares, com maior extensão no seu eixo vertical. A margem anterior da porção frontal pode ser irregular ou reta, com orientação diagonal ou horizontal. As margens mediais da porção anterior dos frontoparietais podem ser retas e justapostas ou irregulares e distanciadas. A porção posterior pode ser mais larga ou de largura igual a porção anterior. A porção posterior pode apresentar processos posterolaterais distintos, investindo sobre as cristas óticas, discretos ou inexistentes. As margens mediais da porção posterior podem ser fundidas, justapostas ou separadas por uma fenda em formato de seta. As margens laterais dos frontoparietais podem ser retas ou curvadas.

Paraesfenóide: é um osso impar com formato de T invertido. O processo cultriforme consiste no corpo medial deste osso, cujas margens laterais podem ser estreitas anteriormente ou retas ao longo de toda a sua extensão. A margem anterior deste processo pode ser franjada ou reta, e pode estar próxima ou distante dos vômeres. As asas do paraesfenóide são de tamanho igual ao longo do seu comprimento. O processo posterior, localizado posteromedialmente é longo e afilado, estendendo-se até as proximidades do forâmen magno.

Vômeres: são ossos pares, localizados anteriormente na superfície ventral do crânio. Apresenta quatro processos, o anterior, o pré-coanal, o pós-coanal e o dentífero. O processo anterior é verticalmente disposto, atingindo as proximidades da articulação premaxila-maxila. O processo pré-coanal é geralmente contínuo com o processo anterior, através de uma margem serrilhada. O processo pós-coanal é menor e mais delgado que o pré-coanal. O processo dentífero apresenta entre 9 a 10 dentes em uma série curvada ou reta, e horizontal ou diagonalmente dispostos.

Pterigóides: são ossos pares e trirradiados. O ramo anterior é longo e articula com a maxila lateralmente, podendo ou não sobrepor o neopalatino. O ramo medial é mais curto, e sobrepõe o proótico por via da sua extremidade cartilaginosa. O ramo lateral é achatado e se funde ao esquamosal e quadratojugal.

Neopalatinos: são ossos retos ou curvados, e horizontalmente dispostos. Sua extremidade medial é sobreposta por todo ou metade do processo dentífero. Sua extremidade lateral é geralmente mais alargada e é justaposto a maxila.

Esquamosal: O ramo zigomático do esquamosal se estende anteriormente, podendo ser curvado ou reto, e inclinado lateralmente ou verticalmente. O comprimento do ramo zigomático pode ser maior, igual ou menor que o ramo ótico.

VERTEBRAS

A coluna é composta por oito vértebras presacrais imbricadas, o sacro e o uróstilo. O comprimento dos processos transversos segue a seguinte ordem: III > IV > V = VI = VII = II. As vértebras não apresentaram variação interespecífica distinguíveis no tamanho ou largura dos processos transversos. Em uma espécie do subgênero *Lithodytes*, *Leptodactylus discodactylus*, houve a presença de depósitos de cálcio nas laterais dos centros das vértebras, que corram fortemente de alizarina.

MEMBROS ANTERIORES

Mãos: apresenta seis elementos no carpo: ulnar, radial, distal do carpo 5-4-3, distal do carpo 2, elemento y e o elemento proximal do prepolex. Três ossos arredondados com tamanhos decrescentes distalmente constituem o prepolex. A fórmula falângica é 2-2-3-3. Pequenos sesamóides estão presentes na epífise distal do metacarpo e na epífise distal das falanges próximas ao metacarpo. Na superfície ventral do distal do carpo 5-4-3 há um sesamóide grande e retangular, cujo maior eixo está disposto verticalmente (Fig. 17). As extremidades das falanges distais são em formato de um “T” pouco ou moderadamente acentuado.

MEMBROS POSTERIORES

Pés: apresenta quatro elementos no tarso: elemento y, distal do tarso 1, distal do tarso 2, e distal do tarso 3. No prehallux estão presentes três a quatro elementos, os quais sempre apresentam algum grau de cartilagem. A sua fórmula falângica é 2-2-3-4-3. Na superfície plantar estão presentes dois sesamóides na epífise distal do fibulare que denominamos sesamóide distal 5 e sesamóide distal 4. Também há um sesamóide com consistência granular na epífise distal do tibiale, próximo ao prépolex (Fig 17).

Sesamóides do fêmur e da tibiafibula: o sesamóide *graciella* (Ponssa *et al.*, 2010) está presente, localizado-se na articulação fêmur-tibiafibular. O *cartilago sesamoides* (Gaupp, 1896) também está presente e se localiza na epífise proximal do tibiale-fibulare, no tendão do m. *plantaris profundus*.

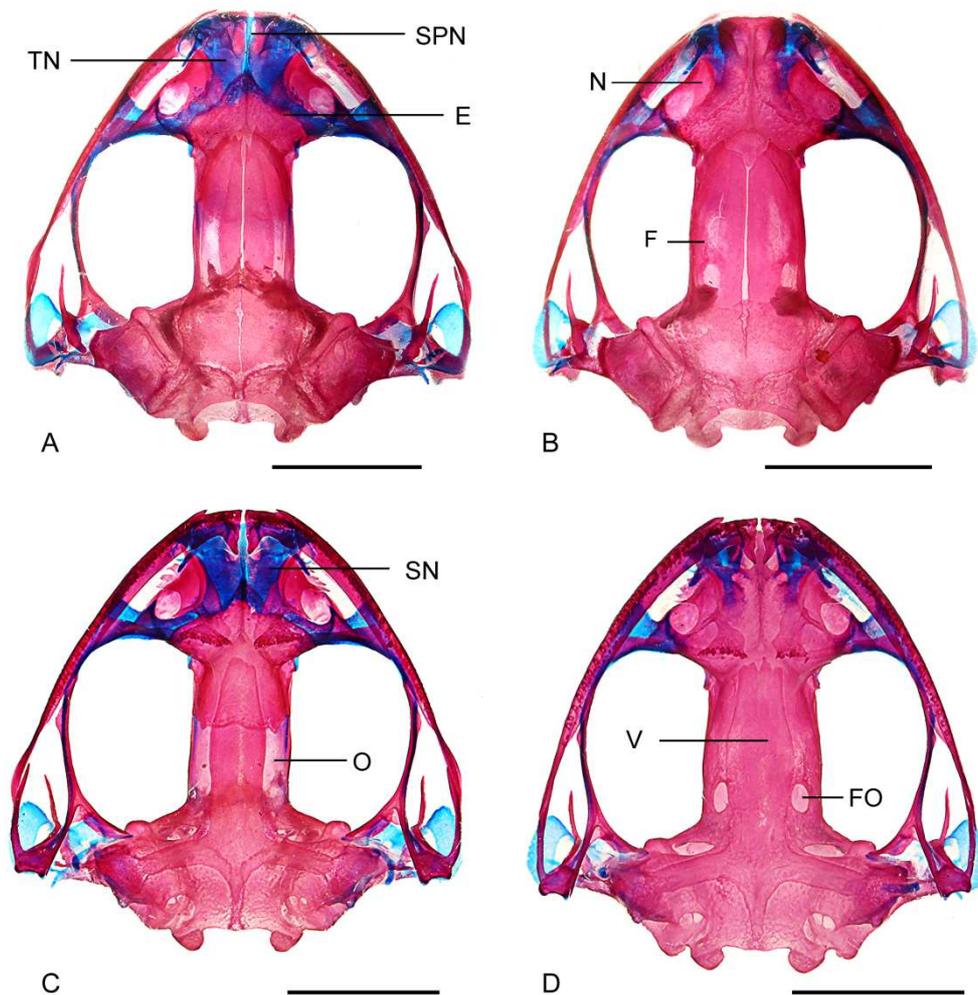


Figura 12. Evidências de dimorfismo sexual no crânio de *Leptodactylus hylaedactylus* de Manaus (AM). Vista dorsal (A) e ventral (C) de uma fêmea, e vista dorsal (B) e ventral (D) de um macho. Abreviaturas: E, esfenetmóide; F, frontoparietal; FO, forâmen óptico; N, nasal; O, orbitoesfenóide; SN, *solum nasi*; SPN, septo nasal; TN, *tectum nasi*; V, vômer Escala: 3mm

APARATO HIÓIDE

A placa hióide é aproximadamente isométrica. Da porção anterolateral da placa saem os delgados processos hiais. Na porção mais anterior do processo hial está presente o processo anteromedial, um prolongamento curto direcionado anteriormente.

Os processos alares que saem da lateral da placa são em geral grandes, em formato de meia lua, com uma base curta e larga. Em apenas uma espécie, *L. sp.* “Piripiri”, este processo é menor e com uma base mais alongada. Os processos posterolaterais são geralmente delgados, mas também podem ser calibrosos. Sua extremidade pode ter o formato de um gancho ou ser arredondado. Os processos posteromediais são ossos delgados, largos nas extremidades, e cuja epífise distal é cartilaginosa.

3.3. CARACTERES

Quarenta e dois caracteres foram obtidos. Estes foram enunciados conforme a sequência lógica proposta por Sereno (2007).

1. Pré-maxila, processo alar, porção distal (Fig. 13)

- (0) Estreita
- (1) Larga

2. Pré-maxila, processo alar, margem dorsal (Fig. 13)

- (0) Reta
- (1) Curvada

3. Pré-maxila, processo alar, processo lateral (Fig. 13)

- (0) Robusto, largo
- (1) Estreito, afilado
- (2) Ausente

4. Nasais, extremidade anterior

- (0) Arredondada
- (1) Reta

5. Nasais, face posterior

- (0) Pouco concavo ou reto
- (1) Muito concavo

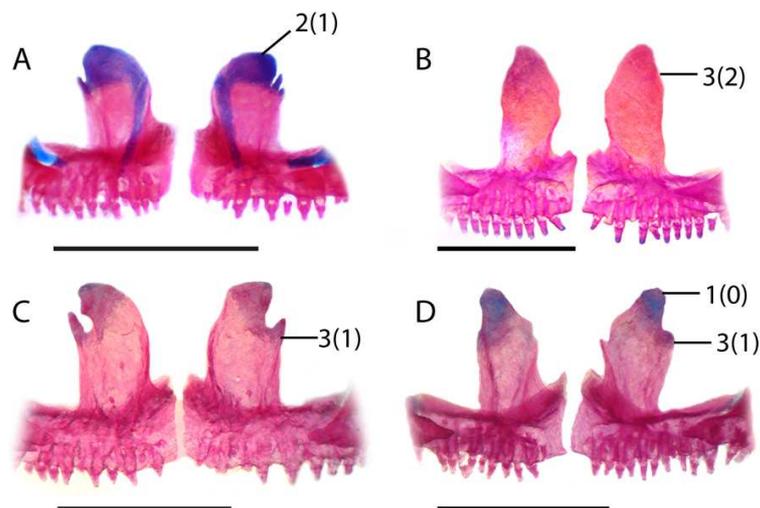


Figura 13. Vista frontal do processo alar da pré-maxila de (A) *Leptodactylus andreae* de Manaus (AM), (B) *L. martinezi* de Palmas (TO), (C) *L. sp.* de Piri-piri (PI) e (D) *L. sp.* de Uberlândia (MG). Números representam os caracteres da porção distal, margem dorsal e margem lateral do processo alar, e os números entre parênteses os respectivos estados encontrados. Escala: 1mm

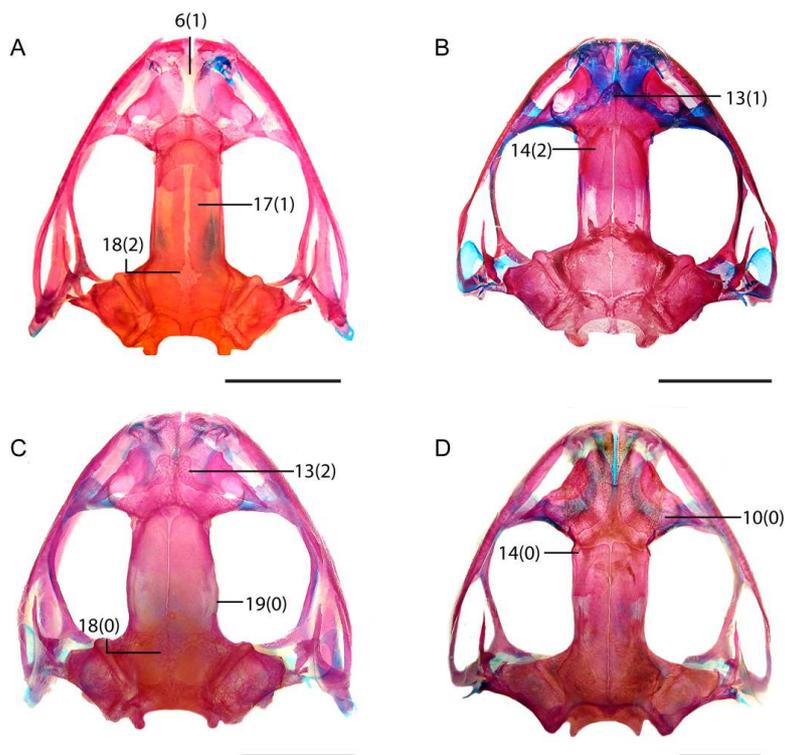


Figura 14. Vista dorsal do crânio de fêmeas de (A) *L. martinezi* de Palmas (TO), (B) *L. hylaedactylus* de Manaus (AM), (C) *L. cf. bokermanni* de Botucatu (SP) e *L. discodactylus* de Carauari (AM) (D). Números fora dos parênteses se referem aos caracteres e os números entre os parênteses aos respectivos estados. Escala: 3mm

6. Nasais, região medial, separação entre o par (caractere 52 de Ponssa, 2008) (C 33 de Heyer, 1979) (Fig 14)

- (0) Curta
- (1) Media
- (2) Larga

7. Nasais, processo maxilar, formato

- (0) Afilado
- (1) Pouco afilada

8. Nasais, processo maxilar, proximidade relativa à maxila (similar ao C54 de Ponssa, 2008)

- (0) Distante
- (1) Adjacente

9. Nasais, face medial, formato

- (0) Pouco curvada
- (1) Curvada
- (2) Reta

10. Nasais, face medial, comprimento relativo à face posterior

- (0) Face medial com comprimento igual ou 3/4 ao da face posterior
- (1) Face medial menos que a metade ou metade do comprimento da face posterior

11. Nasais, região anteromedial, orientação

- (0) Divergentes
- (1) Paralelos

12. Nasais, margens posteromediais, relação com o esfenetmóide

- (0) Não sobrepõe ou o sobrepõe fracamente o esfenetmóide
- (1) Sobrepõe-o largamente o esfenetmóide

13. Esfenetmóide, porção anterior, desenvolvimento relativo à cápsula nasal

- (0) Pouco desenvolvido, limitado a $\frac{1}{4}$ da cápsula nasal
- (1) Moderadamente desenvolvido até a metade da cápsula nasal, afunilando-se anteriormente
- (2) Moderadamente desenvolvido até a metade da cápsula nasal, largo anteriormente
- (3) Muito desenvolvido, ocupando praticamente toda a extensão da cápsula nasal

14. Frontoparietais, margem anterior, formato (Fig 14)

- (0) Reto e horizontal
- (1) Reto e inclinado
- (2) Irregular

15. Frontoparietais, extremidade anterior, largura relativa ao restante do osso (C49 de Ponssa, 2008)

- (0) Da mesma largura
- (1) Mais estreita que o restante do frontoparietal

16. Frontoparietais, processos posterolaterais, comprimento (C47 de Ponssa, 2008)

- (0) Distintos, investindo sobre o canal occipital posterior
- (1) Discretos, quase contínuo com a margem posteriormedial dos frontoparietais

17. Frontoparietais, margens mediais da sua porção anterior (Fig 14)

- (0) Justapostas
- (1) Afastadas

18. Frontoparietais, margens mediais da porção posterior (C34 de Heyer, 1974) (Fig 14)

- (0) Justapostas
- (1) Fundidas
- (2) Afastadas, formando um espaço losangular entre si

19. Frontoparietais, margens laterais da porção anterior (Fig 14)

- (0) Curvadas convexamente
- (1) Retas, contínuas com o restante do frontoparietal
- (2) Com constrição

20. Esquamosal, tamanho do ramo zigomático relativo ao ramo ótico (C35 de Heyer, 1974) (C68 de Ponssa, 2008)

- (0) Ramo zigomático mais longo que o ramo ótico
- (1) Ramo zigomático do mesmo tamanho que o ramo ótico
- (2) Ramo zigomático menor que o ramo ótico

21. Esquamosal, ramo zigomático, extremidade anterior

- (0) Robusta
- (1) Delgada
- (2) Reta com uma pequena bifurcação

22. Esquamosal, ramo zigomático, formato

- (0) Reto
- (1) Curvado

23. Esquamosal, ramo zigomático, direção

- (0) Inclínada
- (1) Vertical

24. Vômer, processo dentígero, formato (C61 de Ponssa, 2008)

- (0) Reto
- (1) Curvado

25. Vômer, processo dentígero, orientação (C62 de Ponssa, 2008)

- (0) Diagonal
- (1) Horizontal

26. Vômer, distância entre si (adaptado do C64 de Ponssa, 2008)

(0) Estreita, menor que a largura da extremidade anterior do processo cultriforme do paraesfenóide

(1) Larga, com largura aproximada à extremidade distal do processo cultriforme

27. Neopalatino, processo em quilha (Fig 15)

(0) Presente, com aspecto laminar

(1) Presente, com aspecto de aba

(2) Ausente

28. Paraesfenóide, processo cultriforme, distancia do processo dentífero dos vómeres (modificado do C37 de Heyer, 1974)

(0) Distanciado dos vómeres

(1) Entre os vómeres

29. Paraesfenóide, processo cultriforme, formato (Fig 15)

(0) Estreito

(1) Reto

30. Hióide, processos alares, tamanho (Fig. 16)

(0) Proporcionalmente pequenos (aproximadamente 1mm)

(1) Proporcionalmente grandes (aproximadamente 2mm)

31. Hióide, processos alares, extremidade anterior

(0) Arredondada

(1) Afilada

32. Hióide, processos alares, base, direção (Fig. 16)

(0) Lateral

(1) Anterolateral

33. Hióide, seio hioglossal, altura relativo aos processos alares (Fig. 16)

(0) Profunda, ultrapassando largamente os processos alares

(1) Rasa, ultrapassando um pouco os processos alares

(2) Rasa, não ultrapassando os processos alares

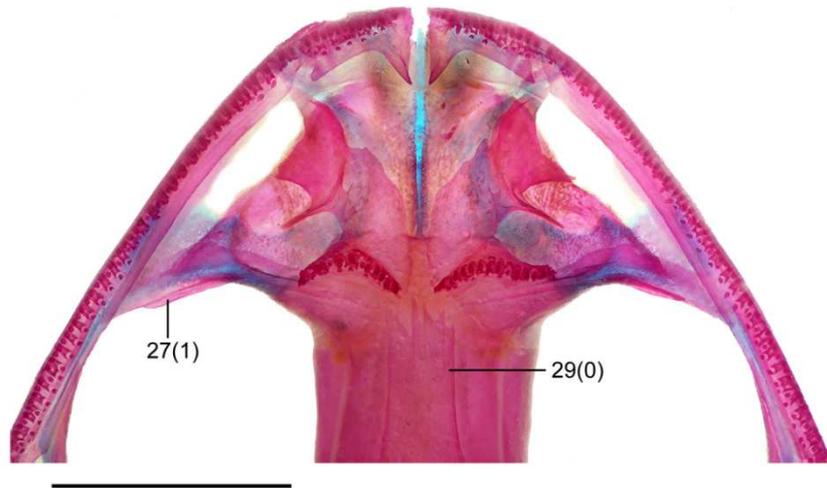


Figura 15. Vista ventral da região anterior do crânio de *L. discodactylus* de Carauari (AM), evidenciando o processo em quilha com aspecto de aba do neopalatino e o estreitamento anterior do processo cultriforme do paraesfenóide. Número ao lado dos parênteses se refere ao caractere e, entre os parênteses, ao estado. Escala 3mm.

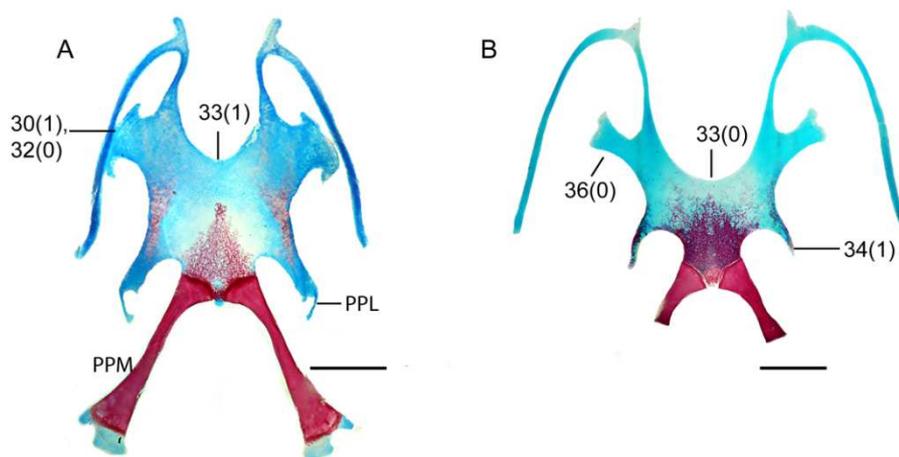


Figura 16. Vista ventral do hióide de (A) *L. hylaedactylus* de Manaus (AM) e (B) *L. discodactylus* de Carauari (AM). Números ao lado dos parênteses se referem aos caracteres levantados e números entre parênteses aos seus respectivos estados. Abreviaturas: PPM, processo posteromedial; PPL, processo posterolateral. Escala: 2mm

34. Hióide, processos posterolaterais, extremidade terminal (similar ao C 74 de Ponssa, 2008) (Fig. 16)

- (0) Em gancho
- (1) Arredondada

35. Hióide, processos posterolaterais, tamanho

- (0) Fino
- (1) Grossa

36. Hióide, relação entre o comprimento horizontal da placa e o comprimento vertical até o início proximal do processo posteromedial

- (0) Comprimento horizontal o dobro do comprimento vertical
- (1) Comprimento horizontal mais de $\frac{3}{4}$ ou igual ao comprimento vertical

37. Tarso, sesamóides, número (Fig. 17)

- (0) 1
- (1) 2

38. Falanges distais, terminalmente em forma de “T” (C47 de Heyer, 1974) (C86 de Ponssa, 2008) (Fig 17)

- (0) Conspícuo
- (1) Moderadamente distinto
- (2) Discreto à inexistente

39. Carpo, sesamóide ventral (Fig. 18)

- (0) Presente
- (1) Ausente

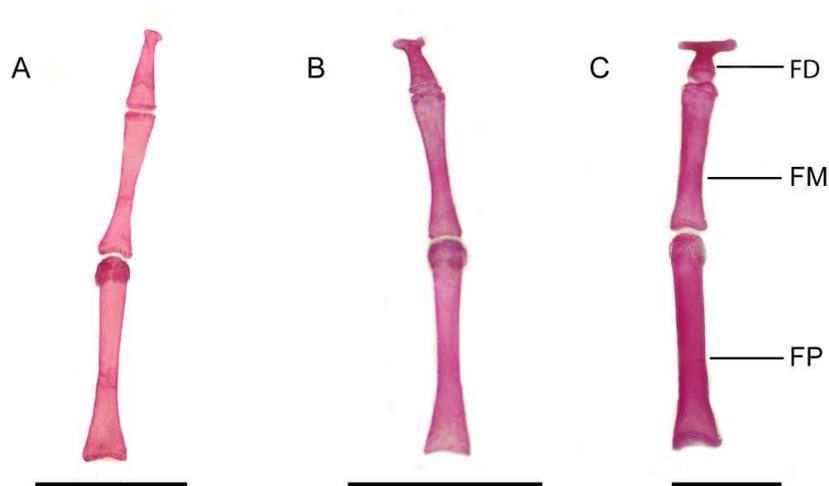


Figura 17. Terceiro dedo do pé, evidenciando diferentes estados encontrados para a extremidade da falange distal. A, *L. martinezi*; B, *L. marmoratus* C, *L. discodactylus*. Abreviaturas: FD, falange distal; FM, falange medial; FP, falange proximal. Escala: 2mm

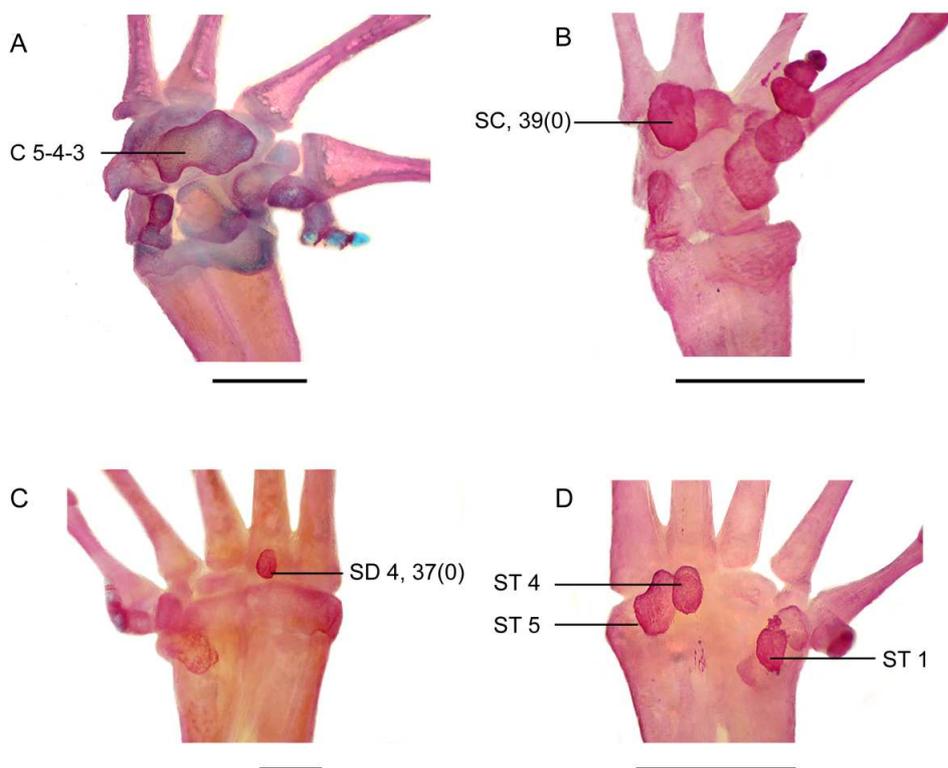


Figura 18. Vistas ventrais das mãos de (A) *Leptodactylus lineatus* de Porto Velho (RO) e (B) *L. cf. bokermanni* de Botucatu (SP) evidenciando a presença e ausência, respectivamente, do sesamóide acima do carpal 5-4-3. Vistas ventrais dos pés de *L. lineatus* (C) e *L. cf. bokermanni* (D), mostrando a presença, respectivamente, de um e três sesamóides. Abreviaturas: SC, sesamóide carpal; C, carpal; ST, sesamóide tarsal. Escala: 2mm.

40. Vertebras, depósitos de cálcio (Fig 19)

- (0) Presente
- (1) Ausente



Figura 19. Vista ventral das vértebras de *L. discodactylus*, evidenciando os depósitos de cálcio entre os processos transversos das vértebras. Número ao lado dos parênteses se refere ao caractere e o entre os parênteses ao estado. Escala 2mm.

41. M. esternohióide, inserção na placa hióide (C 20 de Heyer, 1974) (Fig 9)

- (0) Lateral
- (1) Lateral e posteromedial

42. M. esternohióide, margem lateral (Fig 8)

- (0) Dilatada
- (1) Reta

3.4. ANÁLISE CLADÍSTICA

Uma única árvore mais parcimoniosa de 91 passos foi obtida, com índice de consistência (Kluge e Farris, 1969) de 0.604, índice de retenção (Farris, 1989) igual a 0.561 e índice de consistência re-escalonado (Farris, 1989) de 0.339. Dos 42 caracteres utilizados, 29 foram considerados informativos e 13 não-informativos. O valor de Bremer de cada ramo e os valores de *bootstrap* maiores que 50 estão indicados na árvore (Fig. 20). A matriz de caracteres por táxons encontra-se no Anexo 3.

Monofiletismo do grupo *L. marmoratus*

O grupo *L. marmoratus* (= *Adenomera*) teve o seu monofiletismo corroborado por seis sinapomorfias, que foram: margem anterior dos frontoparietais irregular (14:2); distância entre os vômeres larga (26:1); ausência do processo laminar do neopalatino (27:2); processos alares grandes (cerca de 2mm) e em forma de asa (30:1); curvatura hioglossal rasa, não ultrapassando os processos alares (33:2) e falanges terminais em forma de um “T” moderadamente distinto (38:1).

As espécies do grupo *L. marmoratus* se separaram em dois cladogramas principais: o clado 24 (delimitado pelo nó 24) e o clado 21 (Fig. 20). O primeiro clado agrupa *L. hylaedactylus* e *L. diptyx* de ambientes abertos da Amazônia, e *L. martinezi* e *L. sp.* “Uberlândia” de áreas de Cerrado, no seguinte arranjo (*L. hylaedactylus* (*L. diptyx* (*L. martinezi* e *L. sp.* “Uberlândia”))). Este clado é sustentado por três sinapomorfias (Fig. 21): margens laterais da porção anterior dos frontoparietais reta (19:1); ramo zigomático do esquamosal do mesmo tamanho que o ramo ótico (20:1) e ramo zigomático inclinado (23:0). O clado de *L. diptyx* mais o par de espécies *L. martinezi* e *L. sp.* “Uberlândia” é suportado por uma sinapomorfia: processo alar do premaxilar com uma espícula lateral robusta. O clado 22 com espécies de regiões de Cerrado, foi o mais bem suportado, com um suporte de Bremer de 3 e *bootstrap* de 80. Ele é sustentado por cinco sinapomorfias: margem dorsal do processo alar do pré-maxilar curvada (2:1); esfenetmóide pouco desenvolvido, limitado à ¼ da cápsula nasal (13:0); margens mediais da porção anterior dos frontoparietais afastadas (17:1); margens mediais da porção posterior dos frontoparietais deixando um espaço losangular entre si (18:2) e falanges terminais em forma de um T reduzido (38:2). As três últimas são exclusivas deste clado.

Já o clado 21, agrupa três espécies do Sudeste, além de uma espécie do Nordeste e uma de ambiente florestado da Amazônia. Este clado é suportado por quatro sinapomorfias: face medial dos nasais menos da metade ou metade do comprimento da face posterior (10:1), margens posteromediais dos nasais sobrepõem largamente o esfenetmóide (12:1), esfenetmóide moderadamente desenvolvido até a metade da cápsula nasal, largo anterolateralmente (13:2) e margens mediais da porção posterior dos frontoparietais fundidas (18:1).

A espécie amazônica *L. andreae* ficou inserida no clado das espécies do sul do Brasil (clado 17), que é suportado por uma única sinapomorfia: nasais largamente separados entre si. Irmão a este clado temos o par de espécies *L. sp.* “Piripiri” do Piauí (Nordeste) e *L. thomei* do Espírito Santo (extremo norte do Sudeste), ambas sustentadas pelo ramo zigomático inclinado (23:0) e o processo cultriforme do paraesfenóide estreito anteriormente (29:1). O clado formado por estas espécies é definido por duas sinapomorfias: margem anterior do frontoparietal reta e inclinada (14:1) e ramo zigomático do esquamosal curvado (22:1). *Leptodactylus cf. bokermanni* é o táxon irmão destes dois clados e com eles forma um clado suportado pela face medial dos nasais curvada (9:1) e processos posterolaterais do hióide terminalmente em forma de gancho (34:0). O táxon irmão de todas as espécies deste clado é *L. marmoratus*.

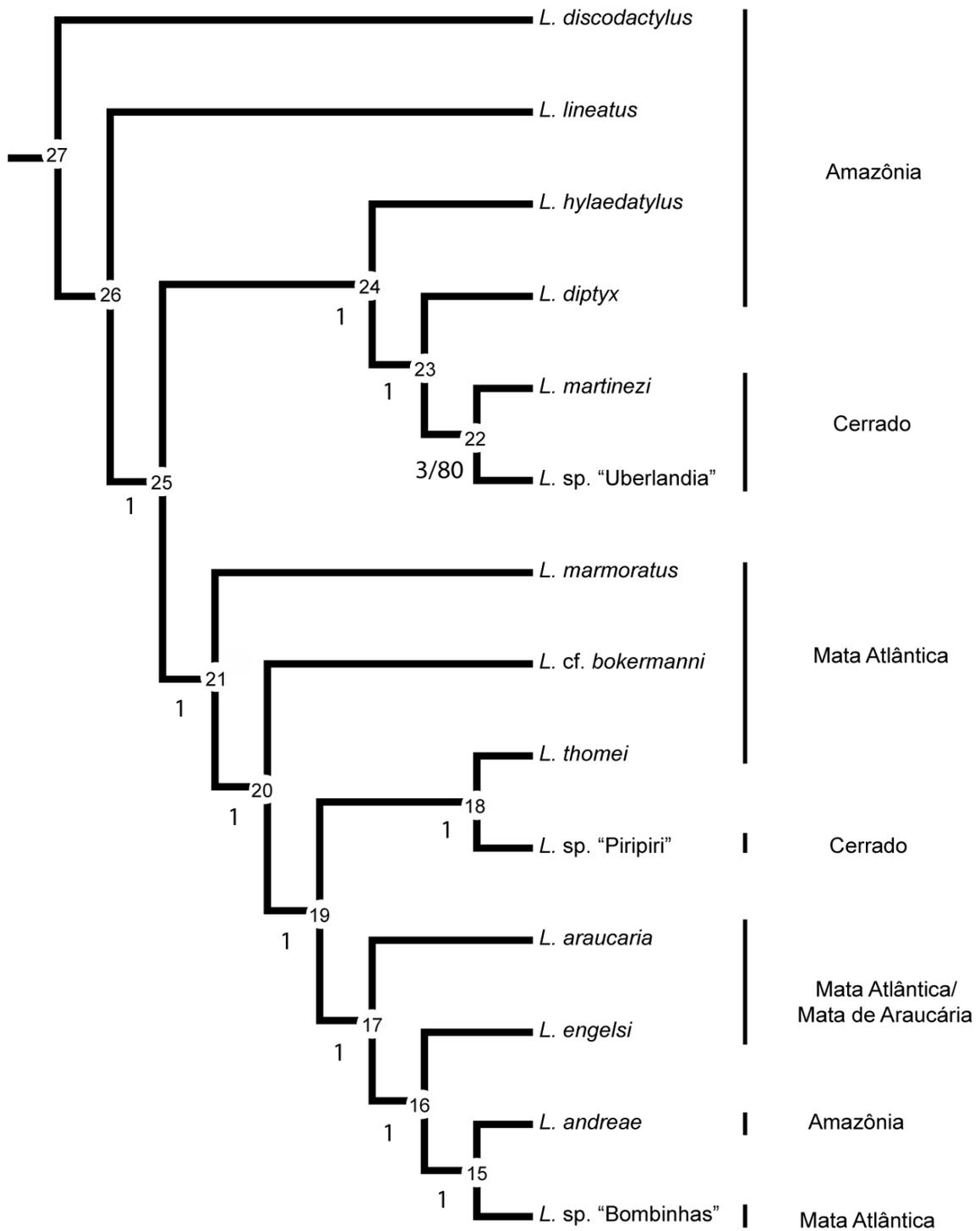


Figura 20. Cladograma da árvore mais parcimoniosa obtida para espécies do grupo *Leptodactylus marmoratus*. Números de cada nó sobrepondo os nós. Números abaixo dos ramos isolados ou a esquerda da barra se referem aos valores de suporte de Bremer e os a direita da barra correspondem aos valores de *bootstrap* maiores que 50. As barras à direita indicam as regiões onde cada espécie ocorre.

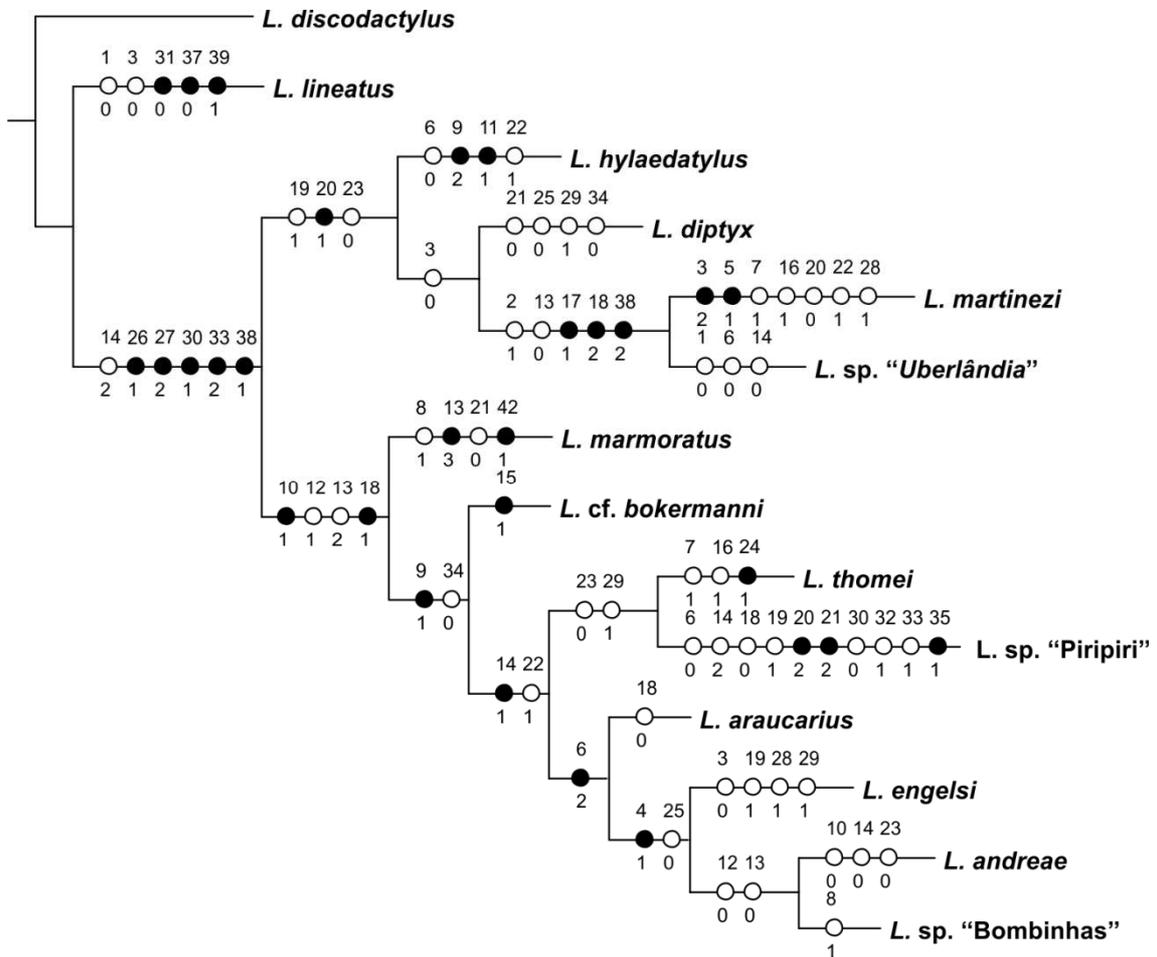


Figura 21. Cladograma com as sinapomorfias de cada clado e as autapomorfias de cada espécie. Círculos preenchidos correspondem a caracteres não homoplásicos e os vazios a caracteres homoplásicos. Números acima dos círculos se referem aos caracteres e os números abaixo aos estados respectivos. Caracteres ambíguos não estão representados.

4. DISCUSSÃO

4.1. Miologia

Poucos estudos miológicos têm sido produzidos com anuros. Isto pode ser explicado pelo fato de músculos serem estruturas de difícil visualização, exigirem tempo para dissecações e serem facilmente danificáveis, impedindo a análise do mesmo músculo futuramente. Entretanto inúmeros sistemas musculares já foram utilizados na sistemática de anfíbios, tais como os músculos superficiais da mandíbula (Tyler 1971a; Burton, 1998), língua (Horton, 1982), músculos laterais da mandíbula (Starrett, 1968; Lynch, 1986; Lynch, 1993); coxa (Noble, 1922; Limeses, 1964); mão (Burton, 1998) e região subcutânea (Tyler 1971b; Burton, 1980).

Os músculos superficiais da mandíbula são considerados informativos tanto para definir táxons de níveis taxonômicos superiores (*e.g.* subfamílias e famílias; Tyler, 1971a), como inferiores (*e.g.* gêneros; Burton, 1984). Todas as espécies aqui analisadas apresentaram o padrão anterolateral de Tyler (1971) para o elemento suplementar, um músculo superficial da mandíbula. Este músculo se manteve constante entre as espécies do grupo *L. marmoratus*, entretanto diferiu entre este grupo e *L. lineatus* e *L. fuscus*. No grupo *L. marmoratus*, o grau de sobreposição do elemento suplementar sobre o submental é mínimo, se restringindo à base do mesmo, enquanto que em *L. lineatus* e *L. fuscus*, o elemento suplementar recobre quase toda a lateral do m. submental. Estas diferenças sugerem que mais investigações a respeito deste caractere entre os *Leptodactylus* podem ser importantes, dadas as discordâncias existentes quanto à filogenia do gênero.

Os músculos da língua de 11 famílias conhecidas na época foram examinados por Horton (1982). Segundo esta autora o m. hioglosso não indicou sinal filogenético, pois apenas um único estado foi encontrado, e o seu número de segmentos, apesar de variáveis, se mostrou muitas vezes diferente entre táxons próximos, e similar entre táxons distantes. Já o m. genioglosso corroborou propostas taxonômicas prévias, indicando o seu potencial para a sistemática de anuros. Um caso interessante onde este músculo mostrou-se informativo foi em Myobatrachidae, onde um único estado do m. genioglosso foi encontrado, a despeito da diversidade de modos de vida tão distintos, como o aquático e o terrestre. No atual estudo encontramos um único estado para as espécies do subgênero *Lithodytes*, que se assemelha ao estado II de Horton (1982)

devido à presença do m. genioglosso basal e do m. genioglosso medial (denominados respectivamente de elemento ventral e elemento interdigitante em Horton (1982)). Entretanto encontramos diferenças entre espécies do grupo *L. fuscus* e as espécies do subgênero *Lithodytes* quanto ao prolongamento dos elementos do m. genioglosso medial. As fibras deste músculo são bem alongadas abrangendo grande parte da extensão do crânio nas duas espécies do grupo *L. fuscus* analisadas, enquanto que no subgênero *Lithodytes* ele se limita ao terço anterior do crânio. Acreditamos, portanto, que mais estudos sobre o m. genioglosso medial no gênero *Leptodactylus* possam contribuir para a sua filogenia.

4.1.1. Comparativo entre o presente estudo e o estudo de Heyer (1974)

Ao avaliar o relacionamento entre as espécies do grupo *L. marmoratus*, Heyer (1974) analisou quinze caracteres miológicos provenientes da região lateral da mandíbula, do aparato hióide e da coxa. Cinco espécies de *Leptodactylus* do grupo *marmoratus* conhecidos na época, foram utilizadas: *L. andreae*, *L. bokermanni*, *L. hylaedactylus*, *L. marmoratus* e *L. martinezi*.

Foi possível obter a localidade das seguintes espécies utilizadas por Heyer (1974): um exemplar de *Leptodactylus* (= *Adenomera*) *andreae* de Canelos, Pastaza, Equador (KU 119331) e um de Teresina, Amazonas, Brasil (WRH 16 = USNM 227567); um exemplar de *L. hylaedactylus* de Regina Fleuve Approuague, Guiana Francesa (LACM 44338) e dois exemplares de *L. marmoratus* de Tijuca, Rio de Janeiro, Brasil (WCAB 30563 = USNM 227568; WCAB 30567, atualmente perdido). Estas informações foram obtidas de Ponssa e Heyer (2007) e dos registros das seguintes instituições acessadas da base digital da HerpNET (<http://www.herpnet.org>) em 27 de dezembro de 2011: Los Angeles County Museum of Natural History (LACM); University of Kansas Biodiversity Institute (KU) e National Museum of Natural History, Smithsonian Institution [anteriormente United States National Museum] (USNM). A localidade das espécies *L. martinezi* e *L. bokermanni* utilizadas por Heyer (1974), não foi ainda obtida.

É provável que estas espécies sejam distintas das utilizadas no presente estudo. O exemplar de *L. hylaedactylus* utilizado por Heyer (1974) da Guiana Francesa pode na verdade ser *L. heyeri*, espécie descrita por Boistel *et al* (2006) para esta região.

As diferenças encontradas entre os músculos analisados por Heyer (1974) e o presente estudo são relatadas a seguir.

1) **M. geniohióide medial** (Fig. 22)

Heyer (1974) definiu os seguintes estados para o m. geniohióide medial (C16): (0) contínuo medialmente, dividindo-se apenas onde os processos posteromediais articulam com o corpo do hióide (presente em *L. andreae* e *L. bokermanni*); (1) dividido medialmente expondo parte do m. hioglosso (não atribuído a nenhuma espécie do grupo); (2) dividido medialmente, com a sua metade posterior coberta pelo m. esternohióide (presente em *L. hylaedactylus*, *L. marmoratus* e *L. martinezi*) e (3) m. geniohióide medial com um segmento externo (não atribuído a nenhuma espécie do grupo). No presente estudo, entretanto, os exemplares de *L. andreae* apresentaram os estados (0) e (1) em uma mesma população. *Leptodactylus hylaedactylus* e *L. martinezi* apresentaram o estado (1) de Heyer (1974), e não o estado (2), pois, apesar de haver uma divisão medial do músculo em duas faixas, este músculo não teve a sua metade posterior sobreposta pelo m. esternohióide. *Leptodactylus marmoratus*, por sua vez, apresentou um estado diferente de todos os encontrados pelo autor. Nesta espécie encontramos a lateral do m. esternohióide dilatada lateralmente, posterior à sua inserção da placa hióide, dando um aspecto curvado ao músculo.

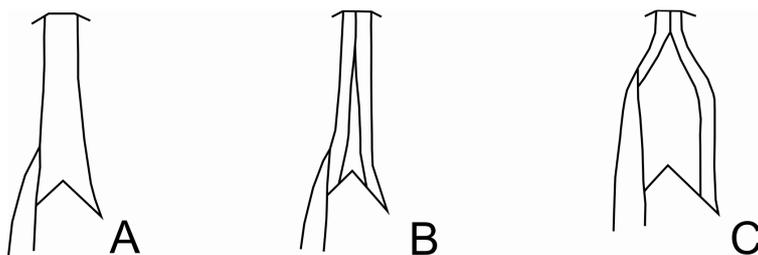


Figura 22. Esquemas redesenhados de Heyer (1974) ilustrando os estados encontrados por este autor do m. geniohióide medial. A, estado (0); B, estado (1); e C estado (2). Segundo Heyer (1974) o estado (0) foi encontrado em *L. andreae* e *L. bokermanni*; e o estado (2) em *L. hylaedactylus* e *L. marmoratus*. O autor também comenta que estado (1) não foi apontado para nenhuma espécie do grupo *L. marmoratus* e sim para outros leptodacilídeos.

2) M. geniohióide lateral

Para o m. geniohióide lateral (C17) Heyer (1974) encontrou a seguinte variação: (0) possível adesão da margem lateral deste músculo ao processo hial do hióide, mas que pode ser devido a um artefato da técnica de fixação; (1) com uma distinta adesão ao processo hial; e (2) aderido ao processo hial por um anexo muscular distinto. Já no atual estudo, o m. geniohióide lateral apresentou uma evidente adesão lateral ao processo hial nos machos de todas as espécies analisadas, e ausência ou fraca adesão deste músculo ao processo hial nas fêmeas, consistindo em uma variação de dimorfismo sexual.

3) M. petrohióide anterior (Fig. 23)

Os modos de inserção do m. petrohióide anterior (C18) encontrados por Heyer (1974) foram agrupados nos seguintes estados: (0) na margem lateral do hióide; (1) na margem lateral e na superfície ventral do hióide; e (2) apenas na superfície ventral do hióide. No atual estudo, entretanto, este músculo se inseriu na margem lateral e na metade posterior do processo alar do hióide, em todas as espécies analisadas.

4) M. esternohióide (Fig. 23)

Para a inserção do m. esternohióide (C20) três estados foram citados por Heyer (1974): (0) m. esternohióide inserido em uma banda estreita próxima às margens laterais do hióide; (1) com fibras com inserção próxima à margem lateral do hióide e algumas próximas à linha mediana do hióide posteriormente; e (2) uma banda estreita com fibras aderidas à linha mediana posteriormente. No presente estudo, todos as espécies do grupo *L. marmoratus* apresentaram o estado 1, com fibras inseridas na lateral e na linha posteromedial da placa hióide. Também encontramos uma condição para o m. esternohióide que não foi apontada em Heyer (1974). Espécimes de *L. marmoratus* apresentaram uma dilatação lateral distinta que não foi encontrada nas demais espécies analisadas. Percebemos assim que esta característica pode ser usada como um caractere diagnóstico para esta espécie.

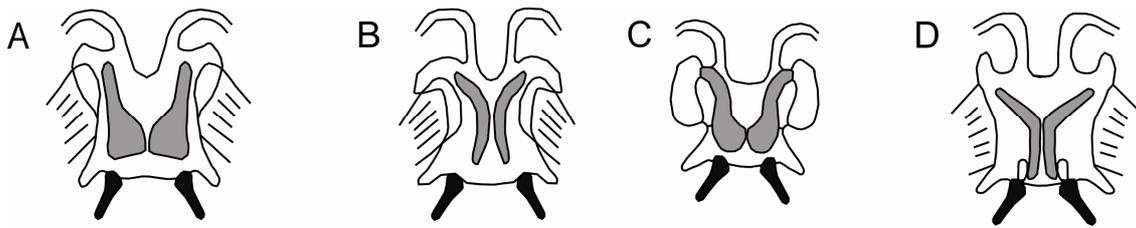


Figura 23. Esquemas redesenhados de Heyer (1974) ilustrando os estados de inserção do m. petrohióide anterior (músculo lateral) e do m. esternohióide (músculos medial indicado pela cor cinza) encontrados pelo autor. O m. petrohióide anterior está representado em A e B como o estado (1), C como o estado (2) e D o estado (0). O m. esternohióide está representado em A e C como o estado (1), e B e D como o estado (2).

As diferenças encontradas em relação ao estudo de Heyer (1974) parecem confirmar estudos prévios que apontam para um elevado número de espécies não descritas para o grupo (Angulo, 2004; Kwet, 2007).

Também é possível que em alguns casos, as diferenças encontradas entre Heyer (1974) e o presente estudo sejam devidas a variações intra-específicas ou erro de observação. Na Tabela 2 resumimos as diferenças encontradas entre o presente estudo e o de Heyer (1974).

Tabela 2. Comparativo das diferenças em músculos do hióide encontradas entre o trabalho Heyer (1974) e o presente estudo.

Caracteres	Heyer (1974)	Presente estudo
Margens mediais do m. geniohióide medial	Contíguas em <i>L. andreae</i> e separadas em <i>L. martinezi</i>	Contíguas ou separadas em <i>L. andreae</i> e <i>L. martinezi</i>
Metade posterior do m. geniohióide medial	Coberta pelo m. esternohióide em <i>L. martinezi</i> , <i>L. marmoratus</i> e <i>L. hylaedactylus</i>	Apenas a extremidade posterior é coberta em todas as espécies analisadas
Margem lateral do m. geniohióide lateral	Com adesão incerta ao processo hial em <i>L. andreae</i> e <i>L. martinezi</i> ; Com uma dilatação distinta aderida ao processo hial em <i>L. hylaedactylus</i> ;	Encontramos a margem lateral do músculo dilatada e aderida ao processo hial nos machos de todas as espécies analisadas. Em <i>L. marmoratus</i> não foi

	Aderido por um anexo muscular distinto ao processo hial em <i>L. marmoratus</i>	encontrado um anexo muscular diferenciado
Inserção do m. petrohióide anterior	Apenas na margem lateral do hióide em <i>L. marmoratus</i> ; Na margem lateral e na superfície ventral do hióide em <i>L. andreae</i> , <i>L. bokermanni</i> e <i>L. hylaedactylus</i> ; Na superfície ventral do hióide em <i>L. martinezi</i>	Em todas as espécies analisadas a inserção deste músculo se dá na metade posterior do processo alar e na margem lateral da placa hióide
Inserção do m. esternohióide	Fibras inseridas próximas à margem lateral do hióide e na linha mediana do hióide em <i>L. andreae</i> , <i>L. bokermanni</i> e <i>L. martinezi</i> ; Inserção em uma faixa estreita com fibras aderidas na linha mediana em <i>L. hylaedactylus</i> e <i>L. marmoratus</i>	Em todas as espécies analisadas este músculo se insere na margem lateral e na linha mediana posteriormente
M. esternohióide	Igual em todas as espécies	Dilatado e curvado em <i>L. marmoratus</i>

4.1.2. Dimorfismo sexual em músculos do aparato hióide

A única característica sexualmente dimórfica na maioria dos anuros é o seu canto de advertência. Tais vocalizações são emitidas geralmente por machos para atrair fêmeas e/ou defender territórios. No entanto, tanto macho como fêmeas emitem cantos de soltura, agonia e de reciprocidade (Duellman e Trueb, 1993). Há alguns raros casos em que fêmeas vocalizam. Fêmeas de algumas espécies são conhecidas inclusive por iniciar a cortejo e para advertir receptividade (Bush 1993). Entretanto, os seus cantos diferem de machos co-específicos devido a diferenças morfológicas na laringe e músculos oblíquos (Emerson e Boyd, 1999). Além das diferenças morfológicas na laringe, o fato de machos geralmente emitirem cantos de advertência, se devem ao saco vocal, cavidade bucal, músculos torácicos e controle nervoso e endócrino (Boyd *et al.*, 1999).

A produção de som em vertebrados terrestres está universalmente relacionada à respiração (Gans, 1973). Vocalizações se devem à passagem de ar por membranas flexíveis chamadas cordas vocais (Yager, 1992). Como os anuros não apresentam costelas ou diafragma, os pulmões são preenchidos por bombeamento bucal (DeJongh e Gans, 1969).

No presente estudo, dimorfismo sexual foi encontrado na morfologia de dois músculos relacionados à respiração, o m. geniohióide lateral e m. petrohióide anterior. Nos machos das espécies do grupo *L. marmoratus*, estes músculos estão aderidos à porção medial do processo hial do hióide, enquanto nas fêmeas o m. geniohióide lateral está fracamente aderido e o m. petrohióide anterior distanciado do processo hial. Este dimorfismo foi observada em nove espécies do grupo *L. marmoratus* (*vide resultados*)

Martins e Gans (1972) descreveram a ação de músculos envolvidos na produção de cantos de soltura em bufonídeos e classificaram o m. geniohióide lateral e m. petrohióide anterior como compressores bucais. O m. petrohióide anterior é descrito como frouxamente aderido ao processo hial em *Rhinella valliceps*, formando uma cobertura para cada uma das aberturas do saco vocal (Martins e Gans, 1972). O aumento da pressão bucal força os músculos ventralmente, os quais por sua vez forçam a placa hióide posteriormente, removendo a cobertura do saco vocal, conferida pelo m. petrohióide anterior e o processo hial associado.

Um mecanismo similar é descrito por McAllister (1961) para diferentes espécies de *Rhinella*. O hióide nestas espécies apresenta uma região achatada próxima a

curvatura anterior do hial. Quando o hióide é empurrado para frente, a região achatada do hial e o tecido circundante ocluem as fendas bucais, provavelmente consistindo no mecanismo de oclusão da conexão entre a cavidade bucal e o saco vocal (McAllister, 1961).

O padrão dimórfico encontrado na adesão do m. petrohióide anterior ao processo hial pode ter a mesma função que o descrito para as espécies de *Rhinella*. A associação entre o processo hial e o m. petrohióide anterior nos machos pode contribuir na abertura e fechamento da abertura vocal, de acordo com o aumento e diminuição na pressão bucal. O m. geniohióide lateral que também tem uma maior adesão ao processo hial nos machos, também pode auxiliar na movimentação do hióide e conseqüente obstrução ou desobstrução da abertura vocal.

Estudos com estimulações *in vivo* são necessários para confirmar a função dos músculos analisados nas espécies de *Leptodactylus* do grupo *marmoratus*. Além disso, outros estudos são necessários para descobrir a grau de abrangência deste dimorfismo sexual entre as demais espécies de anuros e, desta forma, a sua importância evolutiva.

4.2. Dimorfismo sexual: evidências osteológicas do crânio

Diferentes estruturas ósseas são relatadas como sendo sexualmente dimórficas. Uma das estruturas com dimorfismo sexual mais conhecida é o aparato hiolaríngeo. A variação morfológica desta estrutura entre sexos foi descrita para um grande número de famílias, sendo a diferença no tamanho a principal característica encontrada (Trevawas, 1933). Um caso extremo de dimorfismo foi relatado no tamanho e morfologia da laringe de *Xenopus borealis*, na qual os machos apresentam a região posterior muito alargada com um espaço de ar interno oito vezes maior que o das fêmeas (Yager, 1992).

Outro tipo de dimorfismo marcante é a hipertrofia das cristas umerais de machos de algumas espécies de leptodactilídeos (Lynch, 1971), que utilizam os membros anteriores para segurar as fêmeas ou afastar machos. Também encontramos características sexualmente dimórficas relacionadas à defesa territorial, como a presença de um pré-pólex com forma de espinho em *Hypsiboas rosenbergi* (Kluge, 1981) e projeções em forma de espinho na extremidade proximal do úmero em machos de algumas espécies de hilídeos e centrolenídeos (Duellman e Trueb, 1986).

Dimorfismo no crânio é encontrado em um hilídeo com miniaturizações ósseas, *Acris crepitans*, cujos machos tendem a ser menores e com o crânio bem mais

cartilaginosa do que as fêmeas (Maglia, *et al.*, 2007). Isto inclusive dificulta a distinção entre machos sexualmente maduros e fêmeas imaturas. Seguindo um padrão contrário, o hilídeo *Charadrahyla taeniopus*, apresenta uma ossificação mais intensa da região anterior do crânio nos machos que nas fêmeas (Duellman, 1965). O esfenetmoide dos machos desta espécie é extensivo, atingindo a altura dos pré-maxilares, enquanto nas fêmeas este osso é reduzido. Os pré-maxilares são também arredondados nos machos e truncados nas fêmeas (Duellman, 1965). Em decorrência destas características, os machos apresentam externamente um prolongamento da região do focinho, o qual é truncado nas fêmeas. Entretanto, a função deste dimorfismo não foi esclarecida.

Também é conhecida a existência de dimorfismo sexual na osteologia craniana de espécies do grupo *Leptodactylus fuscus*. Os machos deste grupo são caracterizados por apresentarem um focinho afilado que aparentemente é utilizado, juntamente com os membros posteriores, na escavação de câmaras incubadoras (Heyer, 1969). Ponssa e Barrionuevo (2010) descreveram o dimorfismo sexual das estruturas ósseas da região anterior do crânio para 13 espécimes de *L. latinasus* (sete machos e seis fêmeas), um membro do grupo *L. fuscus*. Estes autores compararam a morfologia da cápsula nasal e testaram a existência de diferenças na capacidade de escavação entre 11 machos e 10 fêmeas de *L. latinasus*. Também foi realizada uma análise morfométrica da cabeça de 24 machos e 18 fêmeas desta espécie. Apesar da grande parte dos machos terem apresentado uma maior ossificação anterior do crânio e as fêmeas uma menor, alguns exemplares de machos indicaram características de menor ossificação como: 1) ausência de co-ossificação do *tectum nasi* aos nasais, 2) grânulos difusos de cálcio em um substrato cartilágneo (ao invés de uma ossificação uniforme do *tectum nasi* e *solum nasi*) e 3) vômeres diferenciados do *solum nasi* (Ponssa e Barrionuevo, 2010). De forma inversa, algumas fêmeas apresentaram um elevado grau de ossificação do crânio. Esta variação impediu os autores de afirmarem que o padrão de dimorfismo encontrado era constante. Os testes de medição de desempenho na escavação e as medições morfométricas também não se mostraram significativamente diferentes entre os sexos. Os autores concluíram, então, que a única característica consistentemente dimórfica nesta espécie era a morfologia externa do focinho afilado nos machos.

As espécies do grupo *L. marmoratus* também são conhecidas por apresentarem o focinho em forma de cunha e o hábito de construir câmaras subterrâneas (1974). Ponssa e Heyer (2007) descreveram a osteologia de quatro possíveis espécies novas do grupo *L. marmoratus*, entretanto nenhuma característica de dimorfismo sexual foi apontada para

as espécies do grupo. Ponsa *et al.* (2011) relatam que algumas espécies de *L. andreae* (do grupo *L. marmoratus*) têm calcificação do *tectum nasi* e *solum nasi*. No atual estudo, por sua vez, encontramos um dimorfismo sexual para este grupo, similar ao do grupo *L. fuscus*. Foram analisados fêmeas e machos de nove espécies do grupo *L. marmoratus*. Estas espécies e o número de indivíduos de cada sexo analisados foram: *L. andreae* (1, 5♂), *L. cf. bokermanni* (3♀, 3♂), *L. diptyx* (3♀, 2♂), *L. engelsi* (5♀, 1♂), *L. hylaedactylus* (1♀, 5♂), *L. marmoratus* (1♀, 2♂), *L. martinezi* (3♀, 3♂), *L. sp. “Bombinhas”* (3♀, 1♂) e *L. sp. “Uberlândia”* (8♀, 2♂).

Os machos são caracterizados por uma intensa ossificação da região anterior do nasal que consiste em um (1) *tectum nasi* ossificado e fundido ao esfenetmóide, (2) esfenetmóide estendendo-se até a altura do processo alar do pré-maxilar, e (3) *solum nasi* ossificado e fundido aos vômeres. Essa rigidez reforçada da região nasal nos machos parece corroborar o hábito destes de utilizarem a cabeça para a escavação de câmaras subterrâneas. Diferentemente da maioria das espécies do grupo *L. fuscus*, entretanto, o processo medial do prenasal não é conspícuo no grupo *L. marmoratus*. Ao contrário do encontrado por Ponsa e Barrionuevo (2010) para uma espécie do grupo *L. fuscus*, todas as espécies do grupo *L. marmoratus* apresentaram um padrão de dimorfismo constante, onde os machos são mais ossificados que as fêmeas. Entretanto, uma maior amostragem de exemplares ainda é necessária para confirmar este padrão.

As fêmeas do grupo *L. marmoratus* apresentaram uma grande variação interespecífica no esfenetmóide, ao contrário dos machos que apresentaram um padrão único de ossificação da região anterior do crânio entre as espécies. Nas fêmeas de *L. cf. bokermanni*, *L. diptyx*, *L. engelsi*, *L. hylaedactylus*, *L. thomei* e *L. sp. “Piripiri”*, o esfenetmóide atinge a metade da capsula nasal. Em *L. andreae*, *L. martinezi*, *L. sp. “Bombinhas”* e *L. sp. “Uberlândia”* o esfenetmóide se restringiu ao terço posterior da capsula nasal, e em *L. marmoratus* ele ultrapassou a metade anterior da capsula nasal, aproximando-se dos pré-maxilares, entretanto sem atingir estes últimos, como ocorre nos machos. Poderíamos sugerir que a maior rigidez no crânio encontrada nas fêmeas da espécie *L. marmoratus* possa estar relacionada, similarmente ao que ocorre nos machos, a uma possível contribuição destas na construção de câmaras subterrâneas. Entretanto, estudos sobre o modo reprodutivo desta espécie são necessários para confirmar esta hipótese.

Além de permitir a distinção de espécies do grupo *L. marmoratus*, o esfenetmóide das fêmeas também se mostrou importante na análise cladística do

presente estudo, pois o grau de desenvolvimento do esfenetmóide contribuiu para a formação de clados dentro do grupo *L. marmoratus*. É possível que a exploração deste caractere e da presença ou ausência de dimorfismo sexual dentre as demais espécies do gênero *Leptodactylus* também possa contribuir para a filogenia do gênero

4.3. Análise cladística

Angulo (2004) realizou uma filogenia das espécies do grupo *L. marmoratus* a partir de dados morfológicos e acústicos. O relacionamento entre as espécies do grupo consistiu na formação de dois clados irmãos expressivos: um clado formado apenas pelas espécies do Alto Amazonas (*L. lutzi* e seis espécies não descritas) e um outro clado que configurou o seguinte arranjo ((*L. martinezi* e *L. araucaria*) (*L. thomei* (*L. hylaedactylus* (*L. diptyx* e *L. heyeri*))))).

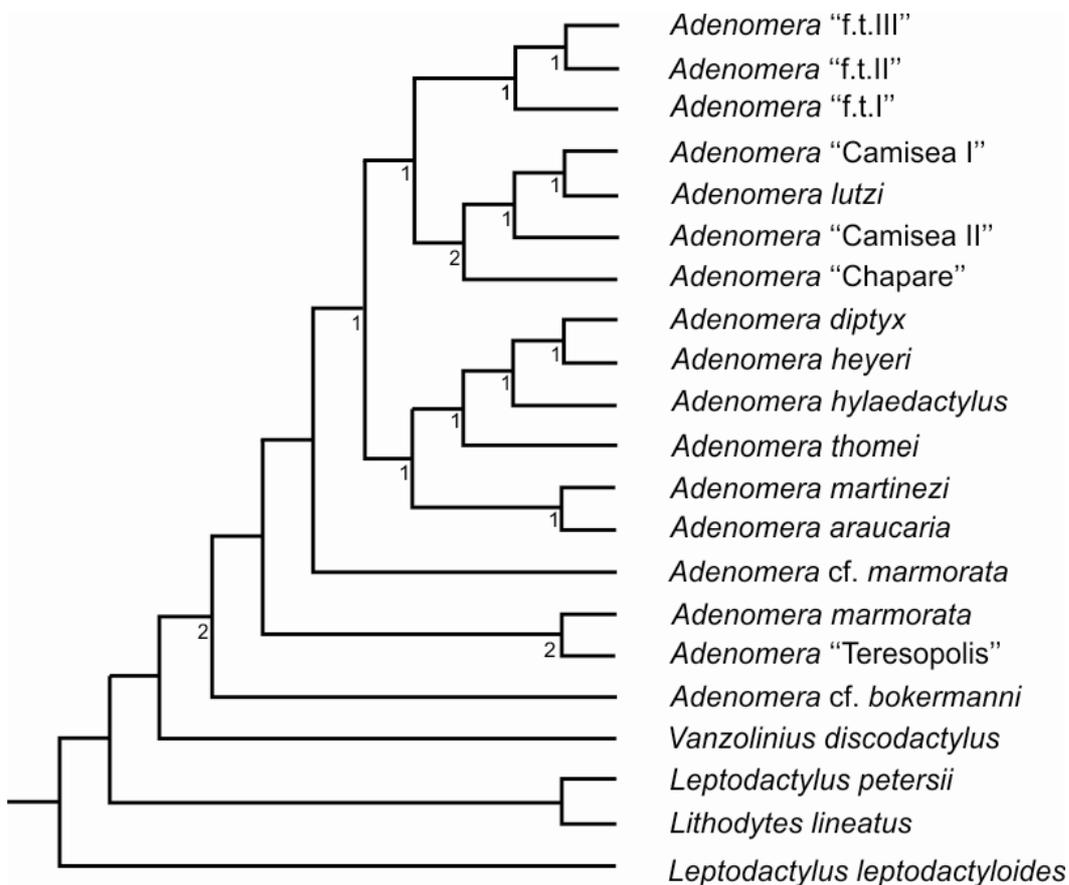


Figura 24. Filogenia com dados acústicos e morfológicos de Angulo (2004) para espécies de *Adenomera* (= grupo *L. marmoratus*). Valores próximos aos nós se referem ao suporte de Bremer.

Neste segundo clado há um subclado também com espécies da Amazônia: (*L. hylaedactylus*, *L. diptyx* e *L. heyeri*). O táxon irmão deste clado amazônico foi *L. thomei* do Espírito Santo. Já o clado irmão destas quatro espécies foi o par de espécies *L. araucaria* (Sul do Brasil) e *L. martinezi* (região de Cerrado do Brasil central). O táxon irmão destes dois cladros principais foi *L. cf. marmoratus*. Já o táxon irmão destes dois cladros e *L. cf. marmorata* foi o par (*L. marmoratus* e *L. “Teresópolis”*); e, por fim, o táxon irmão de todos foi *L. cf. bokermanni*. Todas estas últimas espécies são do sudeste brasileiro.

Relacionamentos diferentes foram encontrados entre Angulo (2004) e o presente estudo. Ao contrário da análise de Angulo (2004) aonde *L. martinezi* do Centro-oeste e *L. araucaria* do Sul do Brasil formaram um clado, a inclusão de mais táxons destas regiões no atual estudo separou-os em cladros distintos, um com espécies de regiões de Cerrado (*L. martinezi* e *L. sp. “Uberlândia”*) e um de regiões do Sul do Brasil (*L. araucaria*, *L. engelsi* e *L. sp. “Bombinhas”*). Em Angulo (2004), *Leptodactylus thomei*, uma espécie do norte do sudeste (Espírito Santo), aparece como táxon irmão de um clado com espécies amazônicas. Já, na presente análise esta espécie formou um clado com uma espécie de região de Cerrado do Nordeste (*L. sp. “Piripiri”* do Piauí). As outras espécies do sudeste analisadas por Angulo (2004) não formaram um clado e apresentaram uma relação de táxon irmão com as demais espécies analisadas. No presente estudo as espécies do sudeste formaram um clado que resultou como táxon irmão do clado composto pelas demais espécies grupo.

Uma semelhança entre o presente estudo e o de Angulo (2004) foi a formação do clado que inclui *L. hylaedactylus* e *L. diptyx*. Estas duas espécies apresentam grande similaridade em sua morfologia externa e canto (Angulo, 2004). Entretanto diferenças no modo reprodutivo (De La Riva, 1996), dados moleculares (Angulo, 2004) e os dados de osteologia aqui apresentados suportam o reconhecimento destas espécies como distintas.

Como o objetivo principal do estudo de Angulo (2004) foi a evolução bioacústica das espécies do grupo Angulo (2004), as sinapomorfias encontradas pela autora não foram reportadas. Assim não foi possível realizar comparações desta natureza com o presente trabalho.

Recentemente, Ponssa (2008) obteve uma filogenia para as espécies de *Leptodactylus* utilizando dados de morfologia externa, osteologia, comportamento e morfometria. Entretanto, apenas as espécies *L. marmoratus* e *L. andreae* do grupo *L. marmoratus* foram utilizadas, impedindo inferências sobre relações dentro do grupo. O táxon irmão deste par de espécies foi *L. lineatus* e o táxon irmão destas três espécies foi *L. discodactylus*, o que configurou o seguinte arranjo (*L. discodactylus* (*L. lineatus* (*L. marmoratus* e *L. andreae*))). Este clado consistiu no grupo irmão do clado que inclui as demais espécies de *Leptodactylus*.

Na hipótese filogenética apresentada por Ponssa (2008), o subgênero *Lithodytes* foi suportado por três sinapomorfias: ponta dos dedos com uma expansão não dividida (18:1), *tectum nasi* no mesmo nível que o processo alar da pré-maxila (41:1) e processo anteromedial do hióide presente (73:1). Heyer (1974) apontou o processo anteromedial do hióide como ausente nas espécies do grupo *L. marmoratus*. Entretanto Ponssa e Heyer (2007) comentaram sobre a presença deste processo em quatro espécies do grupo, e que a ausência relatada em Heyer (1974) seria um erro de observação. No presente estudo, confirmamos a presença do processo anteromedial para todas as espécies do subgênero *Lithodytes* analisadas.

Das espécies do grupo externo analisadas no atual estudo, *L. discodactylus* apresentou características distintas da maioria das demais espécies do subgênero *Lithodytes*, como a inserção do m. esternohióide na região lateral da placa hióide, seio hioglossal profundo e processos alares do hióide pequenos. Estes caracteres são mais semelhantes a outras espécies de *Leptodactylus*, como as do grupo *L. fuscus*. Já *L. lineatus* apresentou um seio hioglossal raso e a inserção do m. esternohióide na linha mediana posterior da placa hióide semelhante as espécies do grupo *L. marmoratus*. Esta última característica, inclusive, se mostrou sinapomórfica para *L. lineatus* e as espécies do grupo *L. marmoratus*. Na descrição de Lynch (1971) de um espécime de *L. lineatus* (KU 104340) de Pastaza, Ecuador, este autor comenta que a inserção do m. esternohióide ocorre na lateral da placa hióide. No entanto esta informação é contradita em Heyer (1974) que analisou o mesmo indivíduo e encontrou o m. esternohióide inserido na porção lateral e linha posteromedial da placa, como no presente trabalho.

4.3.1. Sinapomorfias do grupo *L. marmoratus*

No presente estudo, cinco sinapomorfias foram encontradas para o grupo *L. marmoratus*. Abaixo comentamos e comparamos estes com estudos prévios:

1) Processos alares largos

Este caractere já havia sido apontado por Lynch (1971) como uma característica que distingue o grupo *L. marmoratus* dos demais *Leptodactylus*. Estes últimos diferem por apresentarem processos alares menores e com uma base alongada em forma de haste. Espécies da família Myobatrachidae (da região da Austrália e Papua Nova Guiné) e algumas espécies de Leiuperidae (*Physalaemus* e *Pseudopaludicola*), também são conhecidas por apresentar, de forma convergente, processos alares largos (Lynch, 1971). Heyer (1974), por sua vez, discorda do presente estudo e de Lynch (1971), quanto a forma do processo alar encontrado na maioria das espécies do grupo *L. marmoratus*. As espécies *L. bokermanni*, *L. andreae*, *L. hylaedactylus* e *L. marmoratus* analisadas por Heyer (1974) foram caracterizadas como tendo processos alares estreitos e geralmente hasteados, e apenas *L. martinezi* indicada com a condição de processos alares largos. Dentre as espécies do grupo *L. marmoratus* aqui analisadas quase todas apresentaram processos alares largos e com uma base larga e curta, exceto *L. sp.* “Piripiri” que apresentou um processo alar menor e com uma base moderadamente alongada (hasteada). O formato do processo alar desta espécie lembra o das espécies do grupo externo, *L. lineatus* e *L. discodactylus*, entretanto nossa análise filogenética indicou essa semelhança como uma convergência.

2) Quilha do neopalatino ausente

Um processo em forma de quilha está presente na face ventral do neopalatino das espécies do grupo externo. Este processo variou em seu formato, sendo laminar em *L. lineatus* e em aba em *L. discodactylus*. Já no grupo interno, nenhuma das espécies apresentou este característica. Curiosamente, este processo não é mencionado nem ilustrado para *L. lineatus* em Lynch (1971). Pode ser que o exemplar do Equador utilizado por este autor seja uma espécie diferente dos de Rondônia e Roraima utilizados no atual estudo, ou que os estados ausente e presente deste caractere sejam variáveis dentro de uma mesma espécie. Entretanto também é possível que esta estrutura tenha passado despercebida por Lynch (1971). Esta estrutura foi indicada como presente em *L. mystacinus*, *L. bufonius* e em várias espécies de hílideos em Barg (2003), indicando que a sua evolução surgiu mais de uma vez em anuros.

3) Margem anterior dos frontoparietais irregular

Apesar de ter se mostrado sinapomórfico para o grupo em questão, este caractere sofre mudança de estado no clado 21. Neste clado, quase todas as suas espécies, exceto *L. cf. bokermanni*, apresentam a margem anterior dos frontoparietais reta e inclinadas.

4) Curvatura hioglossal rasa não ultrapassando os processos alares

Quase todas as espécies do grupo *L. marmoratus* apresentaram este estado de caractere, exceto *L. sp. "Piripiri"* que apresenta a morfologia mais diferenciada do hioide com processos alares são curtos e a curvatura hioglossal ultrapassando brevemente os processos alares.

5) Distância entre os processos dentígeros dos vômeres larga

Heyer (1974) utilizou um caractere similar a este, que consistiu no contato medial dos vômeres (C37). Todas as espécies do subgênero *Lithodytes* foram indicadas com o estado (0) vômeres sem contato, e algumas das demais espécies de *Leptodactylus* com o estado (1) vômeres em contato amplo. Igualmente ao estudo de Heyer (1974), nenhuma das espécies do subgênero *Lithodytes* analisadas no presente estudo apresentou contato entre os vômeres, entretanto encontramos diferença no grau de proximidade medial entre os vômeres, onde espécies do grupo externo (*L. lineatus* e *L. discodactylus*) apresentaram uma distancia estreita entre os vômeres e as do grupo interno uma distância ampla entre os vômeres.

6) Falanges terminais moderadamente em formato de "T"

Na maioria das espécies do subgênero *Lithodytes*, a extremidade das falanges terminais apresenta projeções laterais retas e longas que dão o aspecto de um T a elas. Em *L. discodactylus* e *L. lineatus* (o grupo externo), as falanges terminais apresentam a forma de um T distinto. Nas espécies do grupo interno esta condição é menos desenvolvida que nas espécies do grupo externo, e no clado 22 este caractere sofre uma mudança para o estado fracamente desenvolvido, onde a forma em T das falanges terminais são quase imperceptíveis. Além das espécies do subgênero *Lithodytes*, as espécies *L. validus*, *L. diedrus* e *L. nesiotus* (Ponssa e Heyer, 2007; Heyer, 1998; Ponssa *et al.*, 2010) do gênero *Leptodactylus* também são conhecidas por terem falanges terminais em forma de "T". As demais espécies deste gênero costumam ter falanges terminalmente arredondadas ou em forma de "maçaneta".

A análise filogenética realizada e as sinapomorfias apontadas mostram que com os caracteres levantados foi possível obter um padrão de relacionamento entre as espécies do grupo *L. marmoratus* sem politomias. Apesar disto, as relações entre as

espécies deste grupo ainda precisam ser estudadas mais a fundo. Outros tipos de dados como os de morfologia externa, bioacústica, moleculares, larvais, comportamentais, entre outros, precisam ser incorporados a esta análise para que tenhamos uma filogenia mais robusta para este grupo. Além disto, vários estudos indicam que o número de espécies descritas para este grupo é subestimado. Portanto, uma amostragem mais ampla de táxons do grupo também se faz necessária para entendermos mais sobre a sua evolução. Uma maior amostragem de espécies dos demais grupos de *Leptodactylus* também se faz necessária para compreendermos as inter-relações entre estes grupos.

5. CONCLUSÕES

Os músculos superficiais e intermediários da mandíbula, do hióide e da língua apresentaram pouca variabilidade entre as espécies do grupo *L. marmoratus*. Os caracteres musculares mais informativos que encontramos se limitaram ao formato e inserção do m. esternohióide. Os dados miológicos observados para as espécies do grupo *L. marmoratus*, discordam em certos aspectos do estudo Heyer (1974). Acreditamos que a maioria destas diferenças sejam devido às variações interespecíficas, pois várias espécies do grupo ainda aguardam descrições.

Estes mesmos sistemas musculares também foram analisados em duas espécies do grupo *L. fuscus* e comparados com as do grupo *L. marmoratus*. Diferenças entre os grupos foram encontradas no elemento suplementar do m. intermandibular, e principalmente no genioglosso e m. hioglosso. Estes caracteres distintos sugerem a possibilidade de existir grupos monofiléticos dentro de *Leptodactylus*.

Características sexualmente dimórficas foram encontradas em dois músculos, o m. petrohióide anterior e o m. geniohióide lateral, os quais estão relacionados ao processo hial do hióide nos machos. É possível que a morfologia destes músculos nos machos esteja envolvida na abertura e fechamento das entradas para o saco vocal.

Dimorfismo sexual também foi encontrado na osteologia craniana das espécies do grupo *L. marmoratus*. Nos machos encontramos fusões e co-ossificações de ossos do crânio que estão correlacionados com o seu hábito escavador. Entre as fêmeas de diferentes espécies do grupo encontramos diferentes níveis de ossificação na região anterior do crânio, entretanto sempre em menor grau que os machos.

A análise filogenética realizada para espécies do grupo *L. marmoratus* resultou em uma única árvore onde o monofiletismo do grupo foi corroborado. As espécies deste grupo se agruparam em dois clados principais. A análise de mais espécies do grupo, associados a um maior número de tipos distintos de dados, entretanto, ainda se faz necessária para recuperarmos uma hipótese mais completa de relacionamento entre as espécies deste grupo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agnarsson, I., Miller, J. A. (2008) Is ACCTRAN better than DELTRAN? *Cladistics* 24 1032–1038
- Almeida, A.P., Angulo, A. (2006) A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the state of Espírito Santo, Brazil, with remarks on the systematics of associated populations. *Zootaxa*, 1334, 1–25.
- Angulo, A. (2004) The evolution of the acoustic communication system in members of the genus *Adenomera* (Anura:Leptodactylidae): a comparative approach. Unpublished PhD Thesis, University of Toronto.
- Angulo, A., Cocroft, R.B., Reichle, S. (2003) Species identity in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Peru. *Herpetologica*, 59, 490–504.
- Angulo, A., Reichle, S. (2008) Acoustic signals, species diagnosis, and species concepts: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 152, 59–77.
- Barg, M. (2003) Osteología y relaciones filogenéticas de los anuros neobatracios del género *Pseudis*. Tese de doutorado. Universidad Nacional de Buenos Aires. pp. 107.
- Berneck, B.V.M., Da Costa, C.O R., Garcia, P.C.A. (2008) A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of São Paulo State, Brazil. *Zootaxa*, 1795, 46-56.
- Boistel, R., Massary, J. & Angulo, A. (2006) Description of a new species of the genus *Adenomera* (amphibia, Anura, Leptodactylidae) from French Guiana. *Acta Herpetologica*, 1, 1-14.
- Boyd, S.K., Wissing, K.D., Heinsz, J.E., Prins, G.S. (1999) Androgen receptors and sexual dimorphisms in the larynx of the bullfrog. *General and Comparative Endocrinology* 113, 59–68.
- Bremer, K., 1988. The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution* 42, 795–803.
- Burton, T. C. (1980). Phylogenetic and functional significance of cutaneous muscles in microhylid frogs. *Herpetologica* 36, 256-64.
- Burton, T. C. (1984) A new character to distinguish the Australian microhylid genera *Cophixalus* and *Sphenophryne*. *Journal of Herpetology* 18, 205–207.

- Burton, T.C. (1998) Variation in the hand and superficial throat musculature of Neotropical leptodactylid frogs. *Herpetologica* 54, 53–72
- DeJongh, H. J., Gans, C. (1969) On the mechanism of respiration in the bullfrog, *Rana catesbeiana*: A reassessment. *Journal of Morphology*, 127: 259-290.
- De la Riva, I. (1995) A new reproductive mode for the genus *Adenomera* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae): taxonomic implications for certain Bolivian and Paraguayan populations. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 30, 15–29.
- De la Riva, I. (1996) The specific name of *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in the Paraguay River Basin. *Journal of Herpetology*, 30, 556–558.
- De Sá, R.O., Heyer, W.R., Camargo, A. (2005) A phylogenetic analysis of *Vanzolinius* Heyer, 1974 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae): Taxonomic and life history implications. *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 63, 707–726.
- Duellman, W. E. (1965) Frogs of the *Hyla taeniopus* group. *Copeia*, 2: 159-168
- Duellman, W. E., Trueb, L. 1986. *Biology of Amphibians*. New York, McGraw-Hill, USA. 670 pp
- Emerson, S.B., Boyd, S.K. (1999) Mating vocalizations of female frogs: control and evolutionary mechanisms. *Brain, Behavior and Evolution*. 53:187–197
- Fabrezi, M. (1992) El carpo: los anuros. *Alytes* 10 (1): 1-29
- Fabrezi, M. (1993) The anuran tarsus. *Alytes* 11 (2): 47-63
- Farris, J. S. (1989) The retention index and the rescaled consistency index. *Cladistics*, 5: 417–419
- Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791
- Fouquet, A.; Gilles, A.; Vences, M.; Marty, C.; Blanc, M.; Gemmell, N. (2007) Underestimation of species richness in Neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. *PLoS ONE*, 2007, 2(10)
- Ford, L.S. (1989). The phylogenetic position of poison-dart frogs (Dendrobatidae): reassessment of the neobatrachian phylogeny with commentary on complex character systems. Ph.D. Dissertation, The University of Kansas, Lawrence, Kansas.
- Ford, L.S. & Cannatella, D.C. (1993). The major clades of frogs. *Herpetological Monographs* 7, 94–117
- Frost, D.R. (2012) *Amphibian Species of the World: an online reference*, Version 5.4 (29, Novembro, 2010). Electronic database accessible at

- <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- 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* 297,1–370.
- Gans, C (1973) Sound production in the Salientia: mechanism and evolution of the emitter. *American Zoologist*, 13: 1179-1194.
- Gaupp, E. (1896) A. Ecker's und R. Weidersheim's Anatomie des Frosches. (Friedrich Vieweg und Sohn: Braunschweig.)
- Giaretta, A.A, de Freitas, F.G, Antoniazzi & M.M., Jared, C (2011) Tadpole buccal secretory glands as new support for a Neotropical clade of frogs. *Zootaxa* 3011: 38–44
- Goloboff, P., Farris, J. & Nixon, K. (2008) TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, 24, 774-786.
- Goodman, M., Olson, C.B., Beeber, J.E., Czelusniak, J., (1982) New perspectives in the molecular biological analysis of mammalian phylogeny. *Acta Zoologica Fennica* 169, 19–35.
- Grant, T., Kluge, A. G. (2004) Transformation series as an ideographic character concept. *Cladistics*, 20, 23–31.
- Grant, T., Frost, D.R., Caldwell. J.P., Gagliardo. R, Haddad. CFB, Kok, P.J.R, Jeans, D.B, Noonan, B.P, Schargel, W.E., Wheeler, W.C. (2006) Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 299,1–266.
- Haas, A. (2003) Phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters (Amphibia: Anura). *Cladistics*, 19, 23–90.
- Hedges, S.B.; Duellmann, W.E.; Heinicke, M.P. (2008) New World direct-developing frogs (Anura: Terraeana): molecular phylogeny, classification, biogeography, and conservation. *Zootaxa*, 1737, 1-182.
- Hennig, W. (1966) *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois Press, Urbana, IL
- Heyer, W. R. (1969) The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Evolution*, 23, 421–428.

- Heyer, W.R. Studies on the frogs of the genus *Leptodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). VI. Biosystematics of the *melanonotus* group. *Contributions in Science of the Natural history Museum Los Angeles Co.*, 191, 1-48. 1970.
- Heyer, W.R. (1973) Systematics of the *marmoratus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Contributions in Science, Natural History Museum, Los Angeles County*, 251, 1-50.
- Heyer, W.R. (1974) Relationships of the *marmoratus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. *Contributions in Science of the Natural History Museum of the Los Angeles County*, 253, 1-46.
- Heyer, W. R. (1975) A preliminary analysis of the intergeneric relationships of the frog family Leptodactylidae. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 199:1-55.
- Heyer W.R. (1978) Systematics of the *fuscus* group of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Contributions in Science of the Natural History Museum of the Los Angeles County*, 29:1-85.
- Heyer, W.R. (1994) Variation within the *Leptodactylus podicipinus-wagneri* complex of frogs (Amphibia: Leptodactylidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 546, 1-124.
- Heyer, W.R. (1998) The relationships of *Leptodactylus diedrus* (Anura, Leptodactylidae). *Alytes*, 16, 1-24.
- Heyer, W.R. (2005) Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia: Leptodactylidae) from Middle America, northern South America, and Amazonia. *Arquivos de Zoologia* 37:269-348.
- Heyer, W.R.; Rand, A.S.; da Cruz, C. A. G.; Peixoto, O.L.; Nelson, C.E. (1990) Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia*. 31(4): 231-410.
- Horton, P. (1982) The diversity and systematic significance of anuran tongue musculature. *Copeia*, 595-602.
- Kitching, I. J., Forey, P. L., Humphries, C. J., and Williams, D. M. (1998) Cladistics: The Theory and Practice of Parsimony Analysis. Second Edition. The Systematics Association Publication No. 11. Oxford: Oxford University Press.
- Kluge, A. G. (1981). The life history, social organization and parental behavior of *Hyla rosenbergi* Boulenger, a nest-building gladiator frog. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology of the University of Michigan* 160, 1-170.

- Kluge, A. G., and J. S. Farris. 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Systematic Zoology* 18: 1-32.
- Kokubum, M.N.C., Giaretta, A.A. (2005) Reproductive ecology and behaviour of a species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylinae) with endotrophic tadpoles: Systematic implications. *Journal of Natural History*, 39, 1745–1758.
- Kwet, A. (2007) Bioacoustic variation in the genus *Adenomera* in southern Brazil, with revalidation of *Leptodactylus nanus* Müller, 1922 (Anura: Leptodactylidae). *Mitteilungen aus dem Museum fr Naturkunde in Berlin, Zoologische Reihe, Supplement*, 83, 56-68.
- Kwet, A., Angulo, A. (2002) A new species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae) from the Araucaria forest of Rio Grande do Sul (Brazil), with comments on the systematic status of southern populations of the genus. *Alytes*, 20, 28-43.
- Kwet, A.; Steiner, J.; Killikens, A. (2009) A new species of *Adenomera* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest in Santa Catarina, southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 2009, 1-15
- Limeses, C. E. 1964. La musculatura del muslo en los Ceratofrínidos y formas afinas. Con un análisis crítico sobre la significación de los caracteres miológicos en la sistemática de los Anuros superiores. *Contribución Científica, Universidad de Buenos Aires, Series Zoologica*. 1(4): 193-245
- Lynch, J.D. (1971) Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of leptodactyloid frogs. *Miscellaneous Publications Museum of Natural History University of Kansas*, 53, 1–238.
- Lynch, J. D. (1986) The definition of the Middle American clade of *Eleutherodactylus* based on jaw musculature (Amphibia: Leptodactylidae). *Herpetologica*, 42, 248-258
- Lynch, J. D. (1993) The value of the m. depressor mandibulae in phylogenetic hypotheses for *Eleutherodactylus* and its allies (Amphibia: Leptodactylidae) *Herpetologica*, 32-41
- Maddison, W.P., Maddison, D.R. (1992). *McClade: Analysis of Phylogeny and Character Evolution*, Version 4.02. Massachusetts: Sinauer Associates Inc, 398p. Sunderland,
- Maddison, W.P., Maddison, D.R. (2011). *Mesquite: A Modular System for Evolutionary Analysis*. Version 2.73 <http://mesquiteproject.org>.

- Maglia, A. M., Pugener, L. A., Mueller, J. M. (2007) Skeletal morphology and postmetamorphic ontogeny of *Acris crepitans* (Anura: Hylidae): A case of miniaturization in frogs. *Journal of Morphology*, 268:194–223
- Martins, W. F., Gans, C. (1972) Muscular control of the vocal tract during release signaling in the toad *Bufo valliceps*. *Journal of Morphology*, 137: 1-28
- Maxson, L.R., Heyer, W.R. (1988) Molecular systematics of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). *Fieldiana Zoology*, 41, 1–13.
- McAlister, W. H. (1961) The mechanics of sound production in north american *Bufo*. *Copeia*, 1: 86-95
- Menin, M., Almeida, A. P e Kokubum, M. N.C. (2009) Reproductive aspects of *Leptodactylus hylaedactylus* (Anura: Leptodactylidae), a member of the *Leptodactylus marmoratus* species group, with a description of tadpoles and calls. *Journal of Natural History*, 43: 2257–2270
- Nixon, K. C. (1999-2002) WinClada ver. 1.0008 Published by the author, Ithaca, NY, USA.
- 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*, 46, 1-87.
- Ponssa, M.L. (2008) Cladistic analysis and osteological descriptions of the species of the *L. fuscus* species group of the genus *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 46, 249–266.
- Ponssa, M.L., Heyer, W.R. (2007) Osteological characterization of four putative species of the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae), with comments on intra- and interspecific variation. *Zootaxa*, 1403, 37–54.
- Ponssa, M. P., Goldberg, J., Abdala, V. (2010) Sesamoids in Anurans: New data, old issues. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*. 293, 1646-1668
- Ponssa, M. L., Barrionuevo, J. S. (2010) Sexual dimorphism in *Leptodactylus latinasus* (Anura, Leptodactylidae): nasal capsule anatomy, morphometric characters and performance associated with burrowing behavior. *Acta Zoologica*. 20: 1–11
- Sereno, P. C. (2007) Logical basis for morphological characters in phylogenetics. *Cladistics* 23:565–587
- Sharrock, G., J. Felsenstein (1975) Finding all monothetic subsets of a taxonomic group. *Systematic Zoology* 24: 373–377.

- Silva, A.P.Z., Haddad, C.F.B., & Silva, M.J.J. (2009) Filogenia molecular de *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), com base em inferência bayesiana. *Resumos do 55º Congresso Brasileiro de Genética*, pp.121
- Starrett, P. H. (1968) The phylogenetic significance of the jaw musculature in anuran amphibians. Doctoral dissertation, University of Michigan, 179 pp.
- Swofford, D.L. (1998) PAUP*. Phylogenetic Analyses Using Parsimony (*and other methods). Version 4. Sunderland, Sinauer Associates.
- Taylor, R., Van Dyke, C. C. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*, 9(2): 107-119.
- Trewavas, E (1933) The hyoid and larynx of the Anura. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. Series B 222, 401–527.
- Trueb, L. (1993) Patterns of cranial diversity among the Lissamphibia. In: Hanken, J. & B. K. Hall (Eds.), *The Skull 2*. The University of Chicago Press, pp. 255–343.
- Tyler, M. J. (1971a) The phylogenetic significance of vocal sac structure in hylid frogs. *University of Kansas Publications Museum of Natural History*, 19, 319-60.
- Tyler, M. J. (1971b) The occurrence of the *Musculus cutaneus pectoris* in the Anura. *Herpetologica* 27, 150-2.
- Winokur, R. M. and Hillyard, S. D. (1992) Pelvic cutaneous musculature in toads of the genus *Bufo*. *Copeia* 1992, 760-769.
- Yager, D.D. (1992) A unique sound production mechanism in the pipid anuran *Xenopus borealis*. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 104, 351-375

ANEXO

Tabela A. Matrix de dados dos 42 caracteres codificados para as espécies do grupo externo (*L. discodactylus* e *L. lineatus*) e interno (grupo *L. marmoratus*). Caracteres polimórficos seguem a seguinte codificação: a = 0/1; b = 0/2; c = 1/2. Ausência de informação está representada pelo símbolo (?).

Espécie/ Caráter	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42				
<i>L. discod</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	2	0	1	0	1	a	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0			
<i>L. andre</i>	a	1	1	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	a	0	b	1	a	0	0	a	1	2	0	0	1	1	0	2	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0		
<i>L. arauc</i>	0	1	1	0	0	2	0	0	1	1	0	?	?	1	0	0	0	0	a	1	1	1	0	1	1	2	0	0	1	1	0	2	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0		
<i>L. boker</i>	0	a	1	0	0	1	0	0	c	1	0	1	2	2	1	0	0	1	0	0	1	0	a	0	1	a	2	a	0	1	1	0	2	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	
<i>L. diptyx</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	2	0	1	1	1	0	2	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	
<i>L. engel</i>	0	0	1	1	0	2	0	0	1	1	0	1	2	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	2	1	1	1	1	0	2	?	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	
<i>L. hylaed</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	2	0	1	0	1	2	0	0	0	a	1	a	1	1	0	a	1	1	2	0	0	1	1	0	2	a	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	
<i>L. marm</i>	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	3	c	0	0	0	1	0	0	0	0	1	a	a	a	2	0	0	1	1	0	2	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	
<i>L. martin</i>	1	2	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1	2	1	0	1	1	0	0	1	1	2	1	a	1	1	0	2	1	0	1	1	2	0	1	1	0	1	1	0	
<i>L. "Bom."</i>	0	a	1	1	0	2	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	a	0	1	1	1	0	a	1	2	a	0	1	1	0	2	a	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	
<i>L. thom</i>	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	2	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	2	0	1	1	1	0	2	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	
<i>L. "Piri."</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	2	2	0	0	0	0	1	2	2	a	0	0	1	1	2	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	
<i>L. "Ube."</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	c	1	0	0	0	a	1	2	0	0	1	1	0	2	1	0	1	1	2	0	1	1	0	1	1	0	
<i>L. lineat</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	a	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	a	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0

