

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**ANÁLISE FILOGENÉTICA DE *Sphaenorhynchus*  
TSCHUDI, 1838 (ANURA: HYLIDAE)**

**Katyuscia de Araujo Vieira**

Porto Alegre  
2010

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**ANÁLISE FILOGENÉTICA DE *Sphaenorhynchus* TSCHUDI,  
1838 (ANURA: HYLIDAE)**

**Katyuscia de Araujo Vieira**

**Orientador: Dr. Taran Grant**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**PORTO ALEGRE - RS - BRASIL**

**2010**



*“West of town {Curitiba}, singing around open ponds from grass and cattails; call like hitting resonant rocks together quickly 4 or 5 times” (Crochan, 1953, pag.114)*

## SUMÁRIO

<b>Resumo .....</b>	<b>viii</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>ix</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>Material e Métodos.....</b>	<b>9</b>
<i>Amostragem Taxonômica .....</i>	<i>9</i>
Seleção do Grupo Interno .....	9
Seleção do Grupo Externo .....	9
<i>Amostragem de Caracteres Genotípicos .....</i>	<i>10</i>
Protocolos de Laboratório .....	11
<i>Amostragem de Caracteres Fenotípicos .....</i>	<i>11</i>
<i>Análises Filogenéticas .....</i>	<i>12</i>
Tratamento dos Caracteres Genotípicos e Fenotípicos .....	12
Escolha do Método Filogenético .....	13
Análises dos Dados.....	14
<b>Resultados .....</b>	<b>17</b>
<i>Séries de Transformação.....</i>	<i>17</i>
Osteologia de Adultos.....	17
Morfologia Externa de Adultos.....	58
Morfologia Externa de Larvas.....	67
Miologia.....	70
Anatomia interna de adultos.....	75
História Natural.....	76
<i>Relações Filogenéticas.....</i>	<i>77</i>
<b>Discussão.....</b>	<b>82</b>
<i>O Efeito dos Dados Faltantes .....</i>	<i>82</i>
<i>Amostragem Taxonômica – Adição de Grupos Externos.....</i>	<i>83</i>
<i>Relacionamentos entre Sphaenorhynchus e os Grupos Externos.....</i>	<i>85</i>
<i>A monofilia de Sphaenorhynchus e os Relacionamentos entre suas Espécies.....</i>	<i>88</i>
<i>Pedomorfose.....</i>	<i>95</i>
<i>Sítio de Oviposição.....</i>	<i>97</i>
<b>Conclusões.....</b>	<b>100</b>

<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>102</b>
<b>Apêndice I.....</b>	<b>111</b>
<b>Apêndice II.....</b>	<b>135</b>
<b>Apêndice III.....</b>	<b>153</b>
<b>Apêndice IV.....</b>	<b>156</b>
<b>Apêndice V.....</b>	<b>165</b>
<b>Apêndice VI.....</b>	<b>167</b>
<b>Apêndice VII.....</b>	<b>170</b>

*Dedico este trabalho*

*Aos meus pais, José Barbosa e Maria Lúcia*

*“Descubra se o futuro é realmente escuro ou se  
é você que está de olhos fechados”*

*Anônimo*

## AGRADECIMENTOS

*Aos meus pais, pela credibilidade, carinho e apoio financeiro.*

*Aos meus orientadores, Taran Grant e Julián Faivovich pela confiança no meu potencial, por acreditarem que este trabalho seria possível, pelos conselhos pessoais e profissionais e por tornarem-se meus amigos.*

*Aos meus companheiros de trabalho que tornaram-se meus grandes amigos: Camila Both, Bárbara Callegari, Marco Rada, Maurício Rivera, Mariangeles Arce, Alfredo Santos, Sírria Ribeiro, Santiago Sanchez e Danielle Fabri.*

*Um “muito obrigada” ao Patrick Colombo e a Raquel Santos, meus companheiros de sala, por estes dois anos de camaradagem. Patrick, obrigada pela paciência e ajuda com as figuras e mapa. Rac, no final sempre dá certo, viu!?*

*Aos meus “velhos” amigos: “Gaió”, Ingrid Caroline, “Bia”, Ilka, “Dinha”, “Ju Richester”, “Camilinha”, Pablo e Olívia Moretti por estarem sempre presentes, mesmo que às vezes, somente “on line”.*

*Aos meus “novos” amigos de Porto Alegre: Juliana Mariante, Fabi, Luana Garcia, Luiz e “Gaga”, companheiros dedicados durante esses dois últimos anos*

*Aos meus amigos: Mônica Cardoso, Mariana, “Balinha”, “Ju” Zina, Olívia Gabriela, Tuliana, Tereza, Andres Brunetti, Martin Pereyra, Boris Blotto, Roberta Gabroski e Felipe Graziotin. De maneira especial ao Délio Baêta, a Ana Carolina, ao Victor Dill e a Bianca Berneck pelas discussões sobre caracteres, filogenias... Carol e Délio, muito obrigada pelas fotos de *Sphaenorhynchus*. Bictor, obrigada pela ajuda em Buenos Aires, pelas fotos e girinos. Bianca, obrigada pelas fotos e pela ajuda com os empréstimos.*

*Aos curadores ou responsáveis pelo empréstimo do material utilizado neste trabalho: José Pombal Júnior - MNRJ; Hussam Zeher/Carolina Mello - MZUSP; Marcelo Napoli – MZUFBA; Felipe Toledo – ZUEC; Taran Grant/Glaucia F. Pontes – MCP; Laura Verraastro/Márcio Martins – UFRGS; Célio F. B. Haddad – CFBH/Unesp-RC; Antônio Argolo/Mirco Solé – MZUESC; Miguel Trefaut/Vanessa Verdade – USP; Eugenio Izecsohn/Hélio da Silva –*

*URRJ; Denise Rossa-Feres – DZSJRP; Magno Segalla/Julio C. de M. Leite – MHNCI; Renato Feio – MZUFV e Julián Faivovich/Boris Blotto – MACN.*

*Ao professor Ulisses Caramaschi pela credibilidade e grande contribuição ao meu conhecimento sobre Sphaenorhynchus.*

*Ao Felipe Leite, Natan Maciel e Daniel por terem cedido material (espécimes adultos, tecidos, gravações) de Sphaenorhynchus para este trabalho.*

*Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq, pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa;*

*A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação acadêmica e pessoal e, para a realização deste trabalho.*

## RESUMO

O gênero de hilídeos *Sphaenorhynchus* é atualmente composto por 14 espécies, três delas com distribuições associadas à Bacia Amazônica, dez à Floresta Atlântica e uma com distribuição incerta. Apesar de algumas sinapomorfias morfológicas terem sido propostas para *Sphaenorhynchus*, evidências convincentes de monofilia faltam para este gênero, e os relacionamentos entre suas espécies são virtualmente desconhecidos. Com os objetivos de (1) testar a monofilia de *Sphaenorhynchus*; (2) testar as relações entre as suas espécies; e (3) testar no contexto filogenético a evolução da pedomorfose e sítios de oviposição, eu realizei uma análise filogenética baseada em 166 caracteres fenotípicos tomados de 11 espécies de *Sphaenorhynchus* e 12 taxa do grupo externo, e sequências de DNA dos genes 12S, tRNA valine, 16S e citocromo *b* para oito representantes de *Sphaenorhynchus* e 22 taxa do grupo externo. Na análise de evidência total a monofilia de *Sphaenorhynchus* foi suportada por um valor de Goodman-Bremer (GB) de 20 e diagnosticada por 24 transformações fenotípicas e 62 genotípicas, com *S. pauloalvini* sendo a espécie irmã de todas as outras espécies do gênero. *Sphaenorhynchus carneus* forma um clado junto às demais espécies do gênero (excluindo *S. pauloalvini*) suportado por GB de 17 e 20 transformações fenotípicas. As duas espécies amazônicas (*S. lacteus* e *S. dorisae*) formam um clado posicionado entre as espécies de Floresta Atlântica. *Sphaenorhynchus prasinus* é a espécie irmã do clado formado por *S. palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii*. O relacionamento entre estas espécies não é definido na análise de evidência total. No entanto, na análise de apenas os dados fenotípicos *S. palustris* aparece como espécie irmã das outras espécies desse clado, e *S. bromelicola* como espécie irmã do clado formado por *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii*. Na análise de dados fenotípicos *S. surdus* é agrupado com *S. caramaschii*, mas na análise de dados genotípicos cai junto a *S. orophilus*. A evolução da pedomorfose em *Sphaenorhynchus* é ambígua. A inclusão de *S. botocudo* e *S. mirim* e a resolução da ambiguidade no posicionamento de *S. palustris* e *S. bromelicola* são necessárias para o melhor entendimento da evolução deste caráter dentro do gênero. A deposição de ovos na água é um estado ancestral em relação à deposição de ovos nas folhas, que pode ser uma sinapomorfia para *Sphaenorhynchus* ou ter evoluído independentemente em *S. carneus* e *S. pauloalvini*, com a deposição de ovos em bromélias sendo facultativa para *S. surdus*.

## ABSTRACT

### PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *Sphaenorhynchus* TSCHUDI, 1838 (ANURA: HYLIDAE)

The hylid frog genus *Sphaenorhynchus* is currently composed of 14 species, three of them distributed in the Amazon Basin, ten in the Atlantic Forest and one with unknown distribution. Although some morphological synapomorphies have been proposed for *Sphaenorhynchus*, compelling evidence of the monophyly for this genus is lacking, and relationships within the genus remain virtually unknown. With the objectives of testing (1) the monophyly of *Sphaenorhynchus*, (2) the relationships among their species, and (3) the phylogenetic context the evolution of pedomorphosis and oviposition sites, I performed a phylogenetic analysis employing 166 phenotypic characters from 11 species of the *Sphaenorhynchus* plus 12 outgroup taxa, as well as DNA sequences of 12S, tRNA valine, 16S and cytochrome *b* for eight representatives of *Sphaenorhynchus* and 22 outgroup taxa. In the total evidence analysis the monophyly of *Sphaenorhynchus* was supported by a Goodman-Bremer (GB) value of 20 and diagnosed by 24 phenotypic transformations and 62 genotypic transformations, with *S. pauloalvini* being the sister species of all other species of *Sphaenorhynchus*. *Sphaenorhynchus carneus* forms a clade with the other species of the genus (except *S. pauloalvini*) supported by GB of 17 and 20 phenotypic transformations. The two Amazonian species (*S. lacteus* and *S. dorisae*) are monophyletic and are placed within the species of Atlantic Forest. *Sphaenorhynchus prasinus* is the sister species of the clade composed of *S. palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* and *S. caramaschii*. The relationship between these species is not defined in the total evidence analysis. However, in the analysis of only phenotypic data *S. palustris* is the sister species of the remaining species and *S. bromelicola* is sister species of the clade *S. orophilus*, *S. surdus* and *S. caramaschii*. In the analysis of phenotypic data *S. surdus* is grouped with *S. caramaschii*, but in the analysis of genotypic data it falls with the *S. orophilus*. The evolution of pedomorphosis in *Sphaenorhynchus* is ambiguous. The inclusion *S. botocudo* and *S. mirim* and the resolution of the position of *S. palustris* and *S. bromelicola* are necessary for improve understanding of the evolution of this character within the genus. The deposition of eggs in water is an ancestral state relative to the deposition of eggs on the leaves, which may have arisen as a synapomorphy for *Sphaenorhynchus* or appeared independently in *S. carneus* and *S. pauloalvini*, with the deposition of eggs in bromeliads being facultative for *S. surdus*.

## INTRODUÇÃO

O estudo da sistemática fornece informações para o entendimento da diversidade de vida no planeta através da descoberta de novas espécies, da determinação de suas características e delimitação dos relacionamentos entre elas. Atualmente, Hylidae é a maior família de anuros, sendo composta por aproximadamente 870 espécies distribuídas nas subfamílias Phyllomedusinae, Pelodyadinae e Hylinae que são encontradas em todos os continentes, exceto na Antártica. (Frost, 2010). Na história da herpetologia as relações filogenéticas dos hilídeos foram abordadas tanto em uma conjuntura menos inclusiva, como alguns estudos de grupos isolados (e.g., Duellman e Campbell, 1992; Mendelson et al., 2000; Haas, 2003; Faivovich, 2002; Faivovich et al., 2004) quanto em um contexto mais abrangente, tratando-se de toda a família (Faivovich et al., 2005, Wiens et al., 2005; Wiens et al., 2006).

O gênero de hilídeos *Sphaenorhynchus* Tschudi, 1838 atualmente é composto por 14 espécies. Destas, três [*S. carneus* (Cope, 1868), *S. lacteus* (Daudin, 1800) e *S. dorisae* (Goin, 1957)] são conhecidas para as Bacias Amazônica e do Orinoco na América do Sul, Guianas e Trindade [provavelmente *S. lacteus* (ver Kenny, 1969)], nove [*S. planicola* (Lutz & Lutz, 1938); *S. prasinus* Bokermann, 1973; *S. surdus* (Cochran, 1953); *S. pauloalvini* Bokermann, 1973; *S. palustris* Bokermann, 1966; *S. orophilus* (Lutz & Lutz, 1938); *S. caramaschii* Toledo et al. 2007; *S. mirim* Caramaschi et al., 2009 e; *S. botocudo* Caramaschi et al., 2009] para a Floresta Atlântica, desde Pernambuco até o norte do Rio Grande do Sul e uma (*S. bromelicola* Bokermann, 1966a) apenas para uma localidade do Estado da Bahia, em área de Caatinga. Uma espécie [*S. platycephalus* (Werner, 1894)] permanece com *status* taxonômico duvidoso e localidade incerta, já que a única informação sobre sua distribuição é “S. Amerika” como indicado no rótulo do holótipo (Harding, 1991).

As espécies deste gênero estão associadas à ambientes de água lântica, onde os machos cantam na vegetação flutuante em poças temporárias ou permanentes. No entanto, há registro de que *Sphaenorhynchus bromelicola* também pode habitar bromélias, sendo este seu ambiente característico (Bokermann, 1966a, 1974). Um segundo registro do uso de bromélias já foi obtido para um exemplar de *S. surdus* coletado no município de Torres, Estado Rio Grande do Sul, Brasil (Grant, com. pess.). O gênero *Sphaenorhynchus* apresenta grande variação relativa ao modo reprodutivo, pois em oposição à postura dos ovos na água, associada à vegetação submergente [*S. surdus*, *S. lacteus*, *S. dorisae* (Grant, com. pess.; Rodriguez e Duellman, 1994)], *S. pauloalvini* e *S. carneus* põem os ovos em folhas fora da

água (Suárez-Mayorga e Lynch, 2001; Bokermann, 1973) e *S. surdus* deposita os ovos nas axilas de bromélias, hábito considerado facultativo (Grant, com. pess.). A pedomorfose foi registrada para o gênero primeiramente por Bokermann (1974) em *S. bromelicola*, onde foram observados machos adultos e girinos em metamorfose vocalizando próximos a poças permanentes. O encontro de larvas com gônadas funcionais (tanto masculinas quanto femininas) pode ser considerado um fenômeno comum para o gênero já que foram registradas também para *S. palustris* por Haddad e Prado (2005) e para *S. botocudo* e *S. mirim* por Caramaschi et al. (2009).

Duellman e Wiens (1992) propuseram as seguintes sinapomorfias para *Sphaenorhynchus*: (1) ramo posterior do pterigóide ausente; (2) ramo zigomático do esquamosal ausente ou reduzido a um vestígio; (3) *pars facialis* da maxila e processo alar da pré-maxila reduzidos; (4) processo pós orbital da maxila reduzido, sem contato com o quadradojugal; (5) palatino reduzido ou ausente; (6) *pars externa plectri* entrando ao anel timpânico posteriormente (em vez de dorsalmente); (7) *pars externa plectri* redonda; (8) hiale curvado medialmente; (9) coracóides e clavícula alongados; (10) processo transversal da vértebra pré sacral IV alongado e orientado posteriormente e; (11) prépolex ossificado, em forma de lâmina. Outras prováveis sinapomorfias incluem o músculo *intermandibularis* com um elemento suplementar apical diferenciado e o excepcional desenvolvimento posterior do músculo *interhioideus* (Tyler, 1971; Faivovich et al., 2005). A deposição de iridóforos no peritônio parietal em cinco espécies (*S. carneus*, *S. lacteus*, *S. planicola*, *S. prasinus* e *S. surdus*; Haddad e Faivovich, com. pess. em Faivovich et al., 2005) pode ser outra sinapomorfia deste gênero (com muitas instâncias de homoplasia em Hylineae). De acordo com Faivovich et al. (2005) existem também algumas características larvais que poderiam ser consideradas sinapomorfias (para pelo menos algumas espécies de *Sphaenorhynchus*, onde esses estados de caráter são conhecidos) tais como a morfologia e a posição das narinas e a presença de algumas papilas marginais notavelmente grandes (Kenny, 1969; Bokermann, 1973; Cruz, 1973; Cruz e Peixoto, 1980; Suárez-Mayorga e Lynch, 2001). Outra provável sinapomorfia sugerida para *Sphaenorhynchus* por Faivovich et al. (2005) é a mirmecofagia baseada em observações para seis espécies (*S. carneus*, *S. dorisae*, *S. lacteus*, *S. planicola*, *S. prasinus* e *S. surdus*) (Duellman, 1978; Rodriguez e Duellman, 1994; Parmalee, 1999), algo que apareceu poucas vezes em Hylineae (Faivovich, com. pess. em Faivovich et al., 2005).

*Sphaenorhynchus* foi considerado um grupo monofilético irmão de *Scarthyla*

Duellman e De Sá, 1988 e *Scinax* Wagler, 1830 por Duellman e Wiens (1992). No entanto, quando analisado sob um contexto quantitativo e mais amplo, o relacionamento de *Scarthyla* com *Sphaenorhynchus* é mais distante sendo ele mais próximo a *Dendropsophus* Fitzinger, 1843 e *Xenohyla* Izecksohn, 1998 seguindo Faivovich et al. (2005) ou a *Scinax* (Wiens et al., 2005; Wiens et al., 2005) ou a *Scarthyla* e *Pseudis* Wagler, 1830 (Wiens et al., 2006) (Figuras 1 a,b,c e d).

De acordo com a proposta filogenética de Faivovich et al. (2005), baseada em análises parciais ou completas de aproximadamente 5.100 pares de bases de quatro genes mitocondriais e cinco nucleares, os gêneros *Dendropsophus*, *Pseudis*, *Scinax*, *Scarthyla*, *Xenohyla* e *Sphaenorhynchus*, citados anteriormente, pertencem a tribo Dendropsophini. Segundo Faivovich et al. (2005) esta tribo foi diagnosticada por 23 transformações em genes mitocondriais e nucleares e dentre as demais tribos propostas (Cophomantini, Lophiohylini e Hylini) foi a que apresentou o suporte de Goodman-Bremer menor (igual a 19). Uma possível sinapomorfia morfológica, sugerida por Faivovich et al. (2005), para Dendropsophini é a ausência de papilas linguais nas larvas (instâncias conhecidas de reversão em *Lysapsus* e *Pseudis* (De Sá e Lavilla, 1997; Vera Candioti, 2004), condição registrada em todas as espécies de *Dendropsophus*, *Scarthyla* e *Scinax*, em que as larvas foram estudadas (Wassersug, 1980; Duellman e De Sá, 1988; Echeverria, 1997; Faivovich, 2002; Vera Candioti et al., 2004). Este estado de caráter é ainda desconhecido para *Sphaenorhynchus* e *Xenohyla*. Ainda de acordo com Faivovich et al. (2005), outra provável sinapomorfia morfológica para esta tribo é a ausência de excrescências nupciais queratinizadas. Tais estruturas são ausentes em *Pseudis*, *Scarthyla*, *Scinax*, *Dendropsophus*, algumas espécies de *Sphaenorhynchus* e *Xenohyla* (Caramaschi, 1989 não publicado; Duellman e Wiens, 1992; Rodriguez e Duellman, 1994).

As relações entre as espécies de Dendropsophini propostas por Faivovich et al. (2005) sob pesos iguais (1:1:1, transição: transversão: *indels*) se apresentam por um clado composto por *Scarthyla* (*Lysapsus* + *Pseudis*) como grupo irmão de *Scinax*, sendo este grupo irmão de um clado formado por *Sphaenorhynchus* (*Xenohyla* + *Dendropsophus*), porém em uma análise sob custos diferentes, atribuindo diferentes pesos para *indels* e substituições (3:1:2), obteve como resultado exploratório, diferindo do resultado sob pesos iguais, que o clado composto de *Lysapsus*, *Pseudis* e *Scarthyla* move-se de grupo irmão de *Scinax* a grupo irmão de *Dendropsophus*, *Sphaenorhynchus* e *Xenohyla*. No entanto, a maior fonte de incerteza para

Dendropsophini é o baixo suporte da tribo (Figura 1a).

Wiens et al. (2005), em sua proposta filogenética para hilídeos, analisou cinco fragmentos de genes e 144 caracteres morfológicos. Seus resultados foram fundamentados em uma amostragem taxonômica diferente da de Faivovich et al. (2005) e os *gaps* foram considerados como entradas faltantes. Devido a isto a comparação dos seus resultados aos de Faivovich et al. (2005) deve ser realizada com cuidado. Os resultados da análise combinada (dados morfológicos e moleculares) de Wiens et al. (2005) foram propostos com base em dados morfológicos disponíveis para *Pseudis paradoxa*, *Scarthyla goinorum*, *Sphaenorhynchus lacteus*, três exemplares de *Scinax* e quatro exemplares de *Dendropsophus*. Para os dados moleculares foram incluídos fragmentos de cinco genes para cinco exemplares de *Dendropsophus* (~3.448 pb), dois fragmentos (~2.046 pb) para três exemplares e somente o fragmento 12S (~100 a 300 pb) para outros 11. Para *Pseudis paradoxa*, *S. goinorum*, *Sphaenorhynchus lacteus* e para três exemplares de *Scinax* ~3.346 pb foram usados correspondendo aos cinco fragmentos de genes e para outros três exemplares de *Scinax* somente 12S foi usado (~890 pb). Através do método Bayesiano a tribo Dendropsophini não é reconhecida, mas é apresentada como um agrupamento monofilético de *Scinax* + *Sphaenorhynchus* como grupo irmão de *Dendropsophus* (*Scarthyla* + *Pseudis*) (Figura 1 b). No entanto, pelo método de parcimônia este agrupamento não é encontrado e tampouco *Scinax* + *Sphaenorhynchus* são grupos irmãos de *Dendropsophus* (*Scarthyla* + *Pseudis*). Além de que a única espécie de *Sphaenorhynchus* também não é encontrada como espécie irmã de *Scinax* (ver legenda da Figura 5 em Wiens et al., 2005).

Wiens et al. (2006), sem discussão substancial, em uma análise de 140 taxas (124 hilídeos e 16 não hilídeos) e mais sequências combinadas às geradas por Faivovich et al. (2005) e Wiens et al. (2005) por meio do método Bayesiano não reconhece a tribo Dendropsophini como monofilética, mas sugerem dois clados: clado *Scinax* (*Scinax* + *Sphaenorhynchus*) irmão do clado *Dendropsophus* (*Dendropsophus* + *Xenohyla* + (*Scarthyla* + (*Pseudis* + *Lysapsus*))) (Figura 1c). Pelo método de parcimônia Wiens et al. (2006) incluiu 325 taxa e como resultado sugerem *Scinax* como grupo irmão de Lophiohylini + (clado *Dendropsophus* + Hylini), além que os clados bem suportados pela análise bayesiana (clado *Scinax* e clado *Dendropsophus*) não são suportados como monofiléticos. Especificamente, porque o gênero *Sphaenorhynchus* é colocado (com muito pouco suporte < 50%) dentro do clado *Dendropsophus* em vez do clado *Scinax* (Figura 1d).

O gênero *Dendropsophus* contém aproximadamente 91 espécies que se distribuem desde o norte da Argentina e do Uruguai em direção à América do Sul, América Central até o sul do México (Frost, 2010). Uma possível sinapomorfia para *Dendropsophus* é um cariótipo com 30 cromossomos. (Faivovich et al., 2005, Wiens et al., 2005; Wiens et al., 2006). Uma outra provável sinapomorfia de *Dendropsophus*, sugerida por Faivovich et al., (2005), seria a extrema redução do quadradojugal (também presente em alguns Cophomantini e Hylini), condição que requer mais estudo, pois o quadradojugal, aparentemente em níveis diferentes, parece estar reduzido em *Sphaenorhynchus* e possivelmente em *Xenohyla* (Duellman e Wiens, 1992; Izecksohn, 1998). Como também a fórmula de dentes labiais 1/2 (instância de homoplasia conhecida para *Dendropsophus anceps*, com reduções na fórmula em alguns clados: grupos *Dendropsophus labialis*, *D. colombiana*, *D. marmorata*, *D. parviceps*, *D. leucophyllata* e *D. microcephala*) (Duellman e Trueb, 1983).

*Xenohyla* contém duas espécies: *X. truncata* conhecida apenas para o Estado do Rio de Janeiro e *X. eugenioi* conhecida para o Estado da Bahia (três localidades) e para o Estado de Minas Gerais (uma localidade). Hábitos frugívoros, registrados apenas para *X. truncata* (Silva et al., 1989; Izecksohn, 1998); a presença das cicatrizes da saída dos membros anteriores observada por Izecksohn (1998) e Caramaschi (1998), que correspondem na verdade a uma região glandular (Faivovich et al., 2005) e; a presença de um pequeno processo transversal no uróstilo poderiam ser sinapomorfias para o gênero (Faivovich et al., 2005). Além do relacionamento com seu grupo irmão *Dendropsophus*, como apresentado acima, Izecksohn (1998) indicou que *Xenohyla* deveria ser relacionada com *Sphaenorhynchus*, pois compartilha caracteres como o número reduzido de dentes na maxila; um uróstilo relativamente curto; o desenvolvimento de um processo transversal da vértebra pré-sacral IV alongado e orientado posteriormente e ainda; o quadradojugal sem contato com a maxila.

Garda e Cannatella (2007) com base em sequências de mtDNA (2.377 pares de bases de 12S e 16S) encontraram que *Pseudis* é parafilético com respeito a *Lysapsus* e revalidam (erroneamente) o gênero *Podonectes* para *Pseudis minuta* e *P. cardosoi*. Subsequentemente, Aguiar-Jr. et al. (2007) em um contexto quantitativo filogenético, usando 3234 pares de bases (12S, tRNA valina, 16S, citocromo b e éxon 1 de Rhodopsina) reconheceram *Lysapsus* (e consequentemente *Podonectes*) como sinônimo júnior de *Pseudis*. De modo que hoje, o gênero *Pseudis* inclui onze espécies aquáticas que se encontram nas regiões sul, sudeste e centro-oeste Brasil, Uruguai, Argentina, Colômbia e Venezuela (Busin et al., 2001).

Reconstruções filogenéticas moleculares e morfológicas descobriram *Scarthyla goinorum* como grupo irmão de *Pseudis* “sensu stricto” (Da Silva, 1998, não publicado; Darst e Cannatella, 2004; Faivovich et al., 2005; Wiens et al., 2005; Wiens et al., 2006, Aguiar-Jr. et al., 2007).

*Scarthyla*, assim como *Xenohyla*, apresenta duas espécies: *S. goinorum* e *S. vigilans*. Barrio-Amorós et al. (2006) não apresentaram sinapomorfias para este gênero mas apontam que ambas são indistinguíveis morfológicamente e osteologicamente, diferindo apenas no canto e nas larvas. Dentro de Dendropsophini, *Scarthyla* compartilha com *Pseudis* e *Sphaenorhynchus* a mineralização dos elementos intercalares (presente em *Aplastodiscus*) (Barrio-Amorós et al., 2006). Uma estrutura chamada “braço labial” (McDiarmid e Altig, 1990) conhecida para as larvas de *S. goinorum* também tem sido registrada para algumas espécies de *Scinax* (Faivovich, 2002; Heyer et al., 1990, Alves et al., 2004; Alves e Carvalho e Silva, 2002) e aparentemente uma estrutura similar está presente nas larvas de *Sphaenorhynchus dorisae*, apesar da forte suspeita de que estas estruturas não são homólogas (ver Faivovich et al., 2005; Suárez-Mayorga e Lynch, 2001). Outra característica de *Scarthyla goinorum* é um esperma com um único filamento (apomorfia sugerida por Duellman e Wiens, 1992) em contrapartida à presença de espermatozoides com filamentos duplos em *Scinax* e *Sphaenorhynchus* (presente também em centronelídeos, bufonídeos, alguns leptodactilídeos e pelodriadíneos) (Fouquette e Delahoussaye, 1997).

*Scinax* é o maior gênero dentro de Hyliinae. Este gênero possui cerca de 100 espécies que se distribuem desde o sul do México até o leste-central da Argentina, Trinidad e Tobago e St. Lucia (Frost, 2010). Duellman e Wiens (1992) sugeriram que *Scinax* é o grupo irmão de *Scarthyla* e que este clado é irmão de *Sphaenorhynchus*, sendo a monofilia dos três gêneros suportadas por diapófises sacrais estreitas; processo alar da pré-maxila anteriormente inclinado e; girinos com grandes olhos localizados lateralmente. Adicionalmente, Mijares-Urrutia et al., 1999 sugeriram que estes três gêneros estavam relacionados à *Tepuihyla* baseado na observação de que as diapófises sacrais também eram estreitas.

Faivovich et al. (2005) em uma análise filogenética molecular para Hyliinae sugeriram como sinapomorfias morfológicas para este gênero a membrana dos pés entre os dedos I e II que não se estendem além do tubérculo subarticular do dedo I; a capacidade para dobrar o dedo I da mão e dedo I do pé; a origem do m. *pectoralis abdominalis* através de tendões bem definidos e; m. *pectoralis abdominalis* sobrepondo o m. *obliquos externus* (Faivovich, 2002;

Da Silva, 1998 não publicado). Além destes caracteres, Faivovich (2002) considerou como sinapomorfias de *Scinax*, e.g., m. *extensor brevis superficialis digiti* III com uma única origem da ulna, fontanela do frontoparietal ocluída, diapófises sacrais pobremente expandidas ou redondas (estado compartilhado também por *Sphaenorhynchus* e *Scarthyla* (Duellman e Wiens, 1992) e; a presença do m. *lumbricalis longus digit* V que se origina do canto lateral da aponeurose. Contudo, o posicionamento de *Scinax* dentro de Hyliinae sugere que os grupos externos usados por Faivovich (2002) são filogeneticamente distantes de *Scinax*, por esse motivo os caracteres mencionados necessitam ser reavaliados pelo menos entre os Dendropsophini para serem considerados sinapomorfias de *Scinax* (Faivovich et al., 2005)

Apesar de existirem prováveis sinapomorfias que poderiam suportar a monofilia de *Sphaenorhynchus*, sua distribuição taxonômica não é perfeitamente conhecida, e existe uma grande lacuna no conhecimento que diz respeito às relações entre suas espécies, bem como no seu relacionamento com clados mais próximos. Desta forma, por este gênero nunca ter sido estudado em um contexto quantitativo, os objetivos deste trabalho são: 1) testar a monofilia do gênero; 2) testar as relações entre as espécies do gênero e; 3) testar no contexto filogenético a evolução de alguns caracteres como a pedomorfose e sítios de oviposição.

---

→

**Figura 1** - Relacionamentos entre *Sphaenorhynchus* e seus taxa irmãos. (a) Tribo Dendropsophini proposta por Faivovich et al. (2005). A seta mostra o posicionamento alternativo do clado (*Scarthyla* + (*Lysapsus* + *Pseudis*)) quando pesado 3:1:2. Números acima e abaixo dos nodos são valores Goodman-Bremer e Jackknife, respectivamente. \* indica 100% de frequência Jackknife. Círculos pretos indicam nodos que estão presentes na árvore consenso. *H. uruguayana* = *Scinax uruguayana* e *Hyla* (abreviado como *H.*) = *Dendropsophus*. (b) relacionamentos propostos por Wiens et al. (2005) sob o método Bayesiano; ramos com linhas cinzas representam taxa incompletos (>75% de estradas faltantes). Números acima e abaixo dos nodos indicam probabilidade posterior Bayesiana e Bootstrap, respectivamente. *Hyla* = *Dendropsophus*. Relacionamentos propostos por Wiens et al. (2006) sob o método (c) Bayesiano. Números indicam probabilidade posterior, \* indica clados com probabilidade posterior  $\geq 0.95$ ; (d) Parcimônia. Números indicam valores de Bootstrap; \* indica valores de Bootstrap  $\geq 0.95$ ; círculos pretos indicam nodos colapsados na árvore consenso.



## MATERIAL E MÉTODOS

### *Amostragem Taxonômica*

#### Seleção do Grupo Interno

Das 14 espécies atualmente reconhecidas para o gênero, 11 foram utilizadas como terminais (*Sphaenorhynchus caramaschii*, *S. carneus*, *S. dorisae*, *S. lacteus*, *S. orophilus*, *S. palustris*, *S. pauloalvini*, *S. planicola*, *S. prasinus* e *S. surdus*), as quais tiveram amostrados diversos exemplares por diferentes localidades (Figura 1, apêndice V). As espécies *S. platycephalus*, *S. botocudo* e *S. mirim* não foram incluídas nas análises, pelos seguintes motivos: resulta difícil reconhecer *S. platycephalus* como uma espécie distinta das outras sem o estudo do holótipo para comparações, apesar da redescritção feita por Harding (1991) eliminar seis espécies (*S. carneus*, *S. dorisae*, *S. lacteus*, *S. orophilus*, *S. planicola* e *S. pauloalvini*). Portanto, permanece pendente a identidade taxonômica e o posicionamento filogenético de *S. platycephalus*, sendo necessária uma nova reavaliação desta espécie. No caso de *S. botocudo* e *S. mirim*, estas espécies foram recentemente descritas e não foi possível o levantamento de caracteres osteológicos, miológicos (até o momento somente o material tipo está disponível), larvais (larvas desconhecidas) e genotípicos. A inclusão a partir de literatura de somente 22 caracteres fenotípicos (21 morfologia de adultos e um de história natural), sob um total de 166, que apresentaram muita homoplasia nas melhores árvores, resultou em uma árvore consenso pobremente resolvida (não incluída no trabalho) com relacionamentos dentro do grupo interno incertos. Então, optou-se por retirar estas espécies para obter uma topologia com melhor resolução para os outros terminais. A inclusão destas espécies é importante para o melhor entendimento da evolução do mecanismo de pedomorfose. No entanto, hipoteticamente, a futura inclusão delas nas análises não provocará grandes mudanças, pois os adultos de *S. botocudo* se assemelham muito em relação à morfologia externa à adultos de *S. palustris*, da mesma forma que *S. mirim* aparenta estar mais próximo morfologicamente a *S. planicola* (ver discussão de caracteres).

#### Seleção do Grupo Externo

Os grupos externos foram escolhidos segundo a hipótese filogenética de Faivovich et al. (2005) e em face aos critérios de: (1) disponibilidade de tecidos (ou seqüências do Genbank) e (2) disponibilidade de espécimes para estudos morfológicos. Foram incluídos: *Dendropsophus anceps* e *D. elegans* (grupo *D. leucophyllatus*); *D. marmoratus* (grupo *D.*

*marmoratus*); *D. minutus* (grupo *D. minutus*); *D. parviceps* e *D. sanborni* (grupo *D. microcephalus*); *Pseudis minuta*, *P. paradoxa* e *Scarthyla goinorum*; *Scinax acuminatus*, *S. alter*, *S. fuscovarius* e *S. elaeochrous* (clado *Scinax ruber*); *S. catharinae* e *S. perpusillus* (clado *S. catharinae*) e *Xenohyla truncata*; além de *Trachycephalus venulosus* e *Phyllodytes luteolus*, duas espécies que não pertencem à tribo Dendropsophini, sendo a última utilizada para enraizar a árvore.

Numerosos autores tem variado a composição da amostragem do grupo externo para determinar o efeito na topologia do grupo interno (e.g., Dalevi et al., 2001; Puslednik e Serb, 2008; Graham e Lles, 2009). Entretanto, estas avaliações somente fornecem uma noção subjetiva da confiabilidade das inferências do grupo interno. Grant (*in prep.*) sugere, em um procedimento heurístico, a expansão sucessiva de grupos externos até que as hipóteses de topologia e homologia do grupo interno tornem-se insensíveis a adição de mais taxa do grupo externo. A princípio, proximidade filogenética é o principal critério de amostragem para o aumento da severidade deste teste. Seguido pela adição de terminais plesiomórficos do grupo irmão presumido. Em acréscimo ao uso dos resultados de análises filogenéticas explícitas; taxonomia, estados de caracteres compartilhados, biogeografia, e outras observações que sugerem um relacionamento mais próximo com o grupo interno é motivo suficiente para incorporar terminais na amostragem do grupo externo.

Este estudo incorpora os critérios sugeridos por Grant (*in prep.*) para o aumento da amostragem dos terminais do grupo externo. Entretanto, a adição de taxa não foi realizada sucessivamente até que as hipóteses de topologia e homologia do grupo interno se tornassem estáveis. Deixo claro que o objetivo deste estudo não é propor um método analítico ou realizar uma busca severa sobre os efeitos da adição de terminais do grupo externo. E sim, explorar sucintamente as implicações deste processo.

#### *Amostragem de Caracteres Genotípicos*

Para este trabalho foram incluídos quatro genes mitocondriais 12S, tRNA valina e 16S (~2.400 pb) e citocromo b (~385 pb). As sequências foram compiladas de Faivovich et al. (2005) e novas sequências também foram geradas (ver apêndice VI).

Dos 11 terminais do grupo interno, não estão incluídas sequências para três espécies (*S. carneus*, *S. palustris* e *S. bromelicola*) ou pela indisponibilidade de tecidos ou devido às

sequências ainda estarem sendo geradas (e.g., *S. carneus*) (ver apêndice VI). No caso de *S. orophilus* está disponível no Genbank somente uma sequência parcial de 12S (701 pb) utilizada por Wiens et al. (2006). O voucher foi coletado em São Paulo, em uma localidade próxima a Estação Biológica de Boracéia, Serra do Mar, onde é possível encontrar também *S. surdus* e provavelmente *S. caramaschii*. Mesmo não sendo possível confirmar a identidade taxonômica desta espécie optei por utilizar esta sequência nas análises, pois, após comparação esta se apresentou diferente dos fragmentos equivalentes de *S. caramaschii* e *S. surdus* (as espécies mais semelhantes morfológicamente a *S. orophilus*).

#### Protocolos de laboratório

Para a obtenção das sequências geradas para este trabalho o DNA celular foi extraído de amostras de tecidos preservados (normalmente músculo ou fígado em etanol ou congelados) utilizando tanto o método de fenol-clorofórmio quanto através do kit DNeasy QIAGEN. Os genes mitocondriais 12S, tRNA valina e 16S foram amplificados utilizando os *primers* sobrepostos MVZ59-MVZ50, L13-TITUSI, L2A-H10, e AR-BR (ver Goebel et al., 1999). O gene citocromo b mitocondrial foi amplificado usando o par de *primers* MVZ15-Cytb2. A amplificação ocorreu em tubos de reação com 25- $\mu$ l de volume, em bases de pure Taq Ready-To-Go PCR (Amersham–Biosciences, Piscataway, New Jersey). Para todas as amplificações através de PCR, o processo teve fases de desnaturação de 60 s a 94 °C, seguidos de 35 ciclos de amplificação (94 °C por 60 s, 50 C por 60 s, 72 °C por 60 s), com uma fase final de extensão a 72 °C por 6 min. Os produtos da amplificação por PCR foram limpos com GFX PCR *purification kit* de Amersham. A reação de seqüenciamento foi feita utilizando *Big Dye 3.0* (Applied Biosystems). Os produtos do seqüenciamento foram limpos através de uma reação da enzima *Calf Intestine Alkaline Phosphatase* ou SAP (*Shrimp Alkaline Phosphatase*), Exonuclease I e água, em seguida a solução foi incubada a 37° C durante 15 e aquecida a 85° C por 15 minutos. O seqüenciamento dos produtos foi realizado em um sequenciador automático ABI 3730 em ambas as direções. Os cromogramas foram editados e revisados para resolver ambigüidades com *Sequencher 4.5 (Gene Codes)*.

#### Amostragem de Caracteres Fenotípicos

Foi reunido um conjunto de 166 caracteres fenotípicos obtidos de osteologia (n=110), morfologia externa de adultos (n=23), morfologia externa larval (n=13), miologia (n=17) e anatomia interna (n=1). Os caracteres de história natural (n=2) e alguns estados escoreados

para a morfologia larval foram retirados inteiramente da literatura. Eu poderia ter adicionado mais caracteres e aceitado mais estados de morfologia externa larval a partir da literatura, mas é difícil confiar na precisão da codificação de caracteres somente baseados em ilustrações ou observações de outros autores. As autorias das séries de transformações somente foram atribuídas quando o autor se referiu explicitamente aos caracteres observados em artigos publicados. Do contrário, as suas observações foram apenas comentadas nas descrições dos caracteres.

A terminologia empregada para a morfologia externa de adultos segue Duellman (1970), osteologia cranial e poscranial seguem Trueb (1973, 1993), osteologia carpal e tarsal seguem Fabrezi (1992, 1993), morfologia da laringe segue Trewavas (1933), morfologia das cartilagens nasais segue Jurgens (1971), miologia das mãos segue Burton (1996, 1998), miologia do saco vocal segue Tyler (1971) e morfologia externa larval segue Van Dijk (1966).

Para o levantamento de caracteres osteológicos, os exemplares foram diafanizados seguindo o protocolo modificado de Taylor e Van Dyke (1985) (apêndice VII), e sempre que possível, dois exemplares (macho e fêmea) da localidade tipo ou mais próxima desta foram submetidos a este processo. Em alguns casos somente um espécime estava disponível para dissecação e diafanização. O apêndice IV inclui uma lista completa dos espécimes estudados, e indica qual espécime foi examinado para caracteres osteológicos e miológicos. Os músculos foram estudados com a ajuda de uma solução de lugol. Para a observação da extensão dos iridóforos do peritônio parietal e a presença da membrana timpânica foi necessário realizar uma pequena dissecação nas regiões equivalentes, já que a simples observação externa não foi adequada.

### *Análises Filogenéticas*

#### Tratamento dos Caracteres Genotípicos e Fenotípicos

Para permitir a inclusão de sequências incompletas de fragmento (particularmente de *Sphaenorhynchus orophilus*, ver amostragem de caracteres genotípicos, acima) eu quebrei a sequência completa 12S, tRNA valine e 16S em três fragmentos contíguos. Segundo Grant et al. (2006), este procedimento restringe estimativas de homologia por proibir a comparação entre fragmentos, ou seja, é assumido que os nucleotídeos do fragmento X não são homólogos

aos do fragmento Y. Os fragmentos foram separados com a inserção do sinal “#” exclusivamente em regiões altamente conservadas que foram identificadas através de alinhamento prévio no Clustal X 2.0 (Thompson et al., 1997) sob os parâmetros *default* e examinadas usando BioEdit (Hall, 1999). Exceto para identificação de erros, este alinhamento foi somente usado com o propósito de identificar regiões conservadas. Ele não foi utilizado nas análises filogenéticas.

Com o objetivo de conseguir a hipótese de maior poder explicativo, por meio da minimização dos eventos de transformação necessários para explicar a variação dos estados de caráter dos terminais estudados, os caracteres fenotípicos e genotípicos foram tratados sob pesos iguais (ver Grant e Kluge, 2009). A relação utilizada para tratar *indels* (inserções e deleções) e todas as substituições foi de 1:1:1 (transição: transversão: *indels*).

A variação observada nos aspectos fenotípicos dos indivíduos foi codificada em uma matriz, em caracteres binários ou multiestado quando foi o caso, sendo editada utilizando o pacote de programas Mesquite 2.5 (Maddison e Maddison, 2008). Os caracteres foram considerados ordenados e não ordenados. O critério utilizado como evidência para a ordenação das séries de transformação foi a ontogenia.

#### Escolha do Método Filogenético

O critério de otimalidade utilizado para a busca de árvores filogenéticas foi o de máxima parcimônia. Um dos argumentos mais citados para se usar máxima verossimilhança em vez de máxima parcimônia é a suposta inconsistência de máxima parcimônia (Felsenstein, 1978). Porém, este argumento não é relevante no contexto das análises empíricas, porque (1) máxima verossimilhança pode ser inconsistente quando os dados são gerados com diferentes modelos (Steel et al., 1994; Chang, 1996 e Farris, 1999) e (2) parcimônia pode ser consistente (Steel et al., 1993). Além disto, sob algumas condições, parcimônia pode ser mais provável de encontrar a árvore correta do que máxima verossimilhança, dado uma soma finita de dados (Yang, 1997; Siddal, 1998; Pol e Siddal, 2001) e os métodos como máxima verossimilhança e bayesiano fazem suposições baseadas em probabilidades diferentes, sobre a evolução ou confiabilidade de diferentes classes de transformações, levando à maximização de certas classes em detrimento de outras.

## Análises de Dados

As buscas foram realizadas com o auxílio do programa POY (Wheeler et al., 1996-2003) baseadas no princípio da homologia dinâmica (Wheeler, 2001; Wheeler et al., 2006), que procura a combinação entre árvore e alinhamento minimizando o número total de eventos de transformação necessários para explicar as observações. Foi calculado o suporte de Goodman-Bremer (Bremer, 1994; ver Grant e Kluge, 2008). As corridas de POY, exceto pela análise dos dados fenotípicos, foram enviadas ao AMNH (*American Museum of Natural History*), onde as análises foram realizadas através de 4-6 processadores do cluster 32x Dual 3.0 Ghz Dual core Intel XEON 5160 16 Gb RAM. Eu verifiquei os resultados de POY e analisei o alinhamento implicado usando NONA (Goloboff, 1999) através do TNT (Goloboff et al., 2003). O resultado das análises foi, em última instância, o conjunto de árvores mais parcimoniosas proposto pelo programa utilizado. Foram considerados sinapomorfias de um dado nodo somente os estados da série de transformação que (1) não foram ambíguos, ou seja, sem uma seleção arbitrária de otimização, como DELTRAN ou ACTRAN e (2) foram compartilhados por todas as árvores dicotômicas mais parcimoniosas (em NONA isto é realizado através do comando APO-). Hipóteses de homologia e séries de transformação propostas por outros autores que foram relevantes para a variação encontrada no grupo de estudo foram incluídas.

Para explorar questões referentes a entradas faltantes (*missing data*) e a importância dos grupos externos, como também examinar possíveis conflitos de relacionamento entre as espécies de *Sphaenorhynchus* foram realizadas análises independentes baseadas em quatro conjuntos de dados: (1) dados genotípicos; (2) dados fenotípicos; (3) dados combinados e; (4) dados combinados com aumento da amostragem taxonômica. No entanto, foi considerada a melhor hipótese de filogenia a resultante da análise combinada de todas as evidências fenotípicas e genotípicas disponíveis, pois neste estudo foi acatado que a análise de todas as evidências disponíveis maximiza o poder explanatório (Kluge, 1989; Grant e Kluge, 2003). Os procedimentos utilizados para a busca de árvores nos quatro conjuntos de dados são detalhados a seguir.

Análise 1: Dados Genotípicos. Nesta análise foram utilizados os fragmentos 12S, tRNA valine, 16S e citocromo b para 16 terminais (oito grupos externos e oito grupos internos). Como estratégia de busca heurística foi utilizada a opção *Timed search*, que na procura das melhores árvores emprega uma combinação de *Random Addition Sequence*

(RAS) + *Tree Bisection Reconnection* (TBR) + *Ratchet* + *Fusing* + *Do Normal* e *Exhaustive*. As procuras foram realizadas através de quatro processadores que buscaram simultaneamente durante seis horas as melhores árvores. Os valores de suporte de Goodman-Bremer (GB) foram conseguidos através da análise e comparação entre quatro tipos de buscas: (1) dados não alinhados e parâmetros de *default* para GB que consistem em buscar os valores de GB para cada nodo de cada árvore na memória; (2) dados não alinhados e parâmetros de procura mais rigorosos (*50 random-addition trees* + TBR), mantendo as duas melhores árvores por ronda de procura; (3) dados alinhados e parâmetros *default* para GB; (4) dados alinhados e parâmetros de procura mais rigorosos (*50 random-addition trees* + TBR), também mantendo as duas melhores árvores por ronda de procura. As análises envolvendo os dados não alinhados apresentaram menor suporte de GB que as com dados alinhados. A segunda análise, mais rigorosa, apresentou menores estimativas para o suporte. Uma exceção foi notada para o valor de GB para o clado composto de *Sphaenorhynchus caramaschii* e *S. surdus* que apresentou menor suporte na quarta busca, a qual incluía os dados alinhados. Mais análises envolvendo procuras mais rigorosas de árvores poderiam diminuir as estimativas, no entanto como em toda análise heurística, os valores de Goodman-Bremer registrados são “an upper bound”. Como consequência disto, para as próximas análises que incluem dados genotípicos eu utilizei as sequências não alinhadas e parâmetros mais rigorosos para calcular o suporte de Goodman-Bremer.

Análise 2: Dados Fenotípicos. Para a análise dos dados fenotípicos foram incluídos 23 terminais (12 grupos externos e 11 grupos internos) e 166 caracteres (38 ordenados). Assim como para os dados genotípicos foi utilizada a estratégia de busca *Timed Search*. A procura das melhores árvores foi realizada em um PC Windows XP, Intel Core 2 Duo, 166 GHz, 0,99 GB RAM durante 40 minutos; e as melhores árvores foram atingidas 2.000 vezes. Os valores de GB foram calculados através de *100 random-addition trees* + *100 Subtree Pruning and Regrafting* (SPR) e TBR.

Análise 3: Dados Combinados. Nestas análises foram combinados os dados genotípicos (16 terminais/12S, tRNA valine, 16S e citocromo b) e os dados fenotípicos (23 terminais/166 caracteres) estudados particularmente anteriormente. O tempo estabelecido para a estratégia de busca heurística *Timed Search* foi similar as análises dos dados genotípicos. No entanto, o mesmo conjunto de dados foi submetido a 100 iterações de parcimônia *Ratchet* (repesando 25 % dos caracteres por 3). Estes parâmetros indicam que 25 % dos caracteres,

selecionados randomicamente, são repesados durante a busca e que o peso aplicado tem valor de 3. Os valores de GB foram calculados através de 100 *random-addition trees* +100 SPR e TBR, mantendo as duas melhores árvores por ronda de procura.

Análise 4: Dados Combinados – Taxa Adicionais. Para esta última análise foi acrescentado ao terceiro conjunto de dados sequências (12S, tRNA valine e 16S e citocromo b) para sete taxa adicionais, totalizando 30 terminais. As seguintes espécies foram incluídas: *Dendropsophus anceps*, *D. marmoratus*, *D. parviceps*, *Pseudis paradoxa*, *Scinax acuminatus*, *S. elaeochrous* e *Trachycephalus venulosus*. As melhores árvores foram alcançadas através das mesmas estratégias de buscas heurísticas utilizadas nas análises combinadas dos dados genotípicos e fenotípicos (*Timed Search*/6 horas-4 processadores, e uma segunda análise com *Ratchet*/100 iterações, 25% por 3). Os valores de GB foram calculados através de 100 *random-addition trees* + 100 SPR e TBR, mantendo as duas melhores árvores por ronda de procura.

## RESULTADOS

### *Séries de Transformação*

#### Osteologia de Adultos

### **Nasais**

Os nasais são ossos de origem intramembranosa, pareados e invariavelmente presentes em todos os hilídeos. Possuem um processo maxilar que se estende ventro-lateralmente em direção a maxila ao longo da margem anterior da órbita. São ossos que podem ser altamente variáveis em relação ao formato.

#### **01 – Relacionamento medial entre nasais**

Os nasais de *Pseudis minuta* estão tão separados quanto os de *Sphaenorhynchus* e de alguns grupos externos que compartilham o mesmo estado, entretanto Wiens et al. (2005) indicaram que em *Pseudis paradoxa* há um contato medial entre os nasais.

- 0: Largamente separados. Nasais com as suas margens internas ao nível da cartilagem prenasal superior.
- 1: Levemente separados. Nasais onde o eixo paralelo ao eixo axial do corpo e que toca a margem a interna do nasal está localizado medialmente a cartilagem prenasal superior e lateralmente ao septo nasal.
- 2: Nasais justapostos ao septo nasal. Nasais com as suas margens internas justapostas ao septo nasal.

#### **Caráter não ordenado**

#### **02 – Formato do nasal em vista dorsal (Figura 1, apêndice I)**

O formato dos nasais variou entre os taxa analisados. Estou ciente de que o formato destes ossos pode estar correlacionado a outras características, e.g., o grau de desenvolvimento posterior e anterior destes elementos, fazendo com que este caráter possa ser dependente de outros. No entanto, nos taxa analisados não foi claro a dependência entre estes elementos, fazendo com que eu codificasse o formato do nasal através de uma série de características.

- 0: Nasal em formato de “L” porção anterior cobrindo o *tectum nasi* somente.

- 1: Nasal redondo. A margem anterior estende-se diagonalmente em direção ao *planum terminale*. Suas margens internas são arredondadas e a extremidade anterior não se projeta tão anteriormente quanto o que ocorre no estado 2.0.
- 2: Semelhante ao estado anterior, mas sua extremidade anterior estende-se um pouco mais anteriormente.
- 3: Nasal retangular ou quadrado. A margem anterior estende-se em linha reta em direção a cartilagem lingular. As margens anterior e posterior são paralelas entre si, assim como as margens externa e interna.
- 4: Subtriangular. Muito semelhante ao estado anterior, mas a porção anterior projeta-se anteriormente cobrindo o *tectum nasi*, alcançando o nível do processo alar da premaxila.
- 5: Nasal delgado. Aparenta ter um formato semelhante a um “taco”.
- 6: Nasal Oval. Porção anterior alcança a cartilagem prenasal superior e porção posterior sobrepondo o *planum antorbitale*.

**Caráter não ordenado**

**03 – Processo angular anterior**

O processo angular anterior dos nasais projeta-se ventralmente tocando o *planum terminale* e cobrindo uma parte da região posterior da cartilagem oblíqua. Este processo foi primeiramente observado por Izeckshon (1998) para *Xenohyla truncata*. Além de ter constatado esta estrutura para *X. truncata* eu também a observei para *Dendropsophus elegans*. Que se apresentaram com formato diferente: subtriangular para *X. truncata* e quadrado para *D. elegans*.

0: Ausente

1: Presente

**04 – Relação entre o processo maxilar do nasal e a parede postnasal e *planum antorbitale***

0: Processo maxilar do nasal encerrado no espaço entre a parede postnasal e *planum antorbitale*.

1: Processo maxilar do nasal ultrapassando o limite do *planum antorbitale*.

2: Processo maxilar do nasal ultrapassando o limite da parede postnasal.

**Caráter não ordenado**

**05 – Relação entre os nasais e esfenotimóide**

*Sphaenorhynchus caramaschii* é polimórfico para este caráter, assim como as espécies de *Scinax* observadas por Faivovich (2002): *S. granulatus* (usando o nome *S. eringiophila*), *S.*

*fuscovarius*, *S. perereca*, *S. esqualirostris* e *S. oreites*. Algumas espécies de *Scinax* também compartilharam um ou outro estado com *Sphaenorhynchus* (ver Faivovich, 2002 para *Scinax*). Apesar de não ter codificado por ter variado intra e interespecificamente, foi observado uma graduação no nível de separação entre estes elementos dentro de *Sphaenorhynchus*.

0: Livres, separados.

1: Sobrepostos

## **Frontoparietais**

Os frontoparietais são ossos de origem intramembranosa e geralmente pareados. Estes ossos comumente sobrepõem anteriormente a porção posterior do esfenotimóide, sendo dorsais aos proóticos com os quais eles podem articular por meio de uma flange ventral, a lâmina *perpendicularis*. Posteriormente, podem recobrir os proóticos e exoccipitais (Trueb, 1973).

### **06 – Exposição da fontanela do frontoparietal (Faivovich, 2002) (Figura 2, apêndice I)**

Nos exemplares de *Sphaenorhynchus* observados, as margens paralelas internas dos frontoparietais deixavam um espaço muito estreito, onde se é possível ver a luz da fontanela, como exemplificado nas figuras 2B e 3B-D (apêndice I). Neste caso os frontoparietais possuem suas margens internas muito próximas, variando o grau de proximidade, com *S. palustris* apresentando-se um pouco mais separado e *S. carneus* no outro extremo, onde foi observado que as margens dos frontoparietais eram paralelas e anteriormente e posteriormente iguais as outras espécies observadas para o estado 6.1, mas medialmente estavam justapostas. Apesar desta justaposição medial, não apresentada pelos demais *Sphaenorhynchus*, igualmente nota-se o mesmo nível de exposição da fontanela.

Os estados aqui apresentados se assemelham aos estados 3.0 e 3.3 codificados para as espécies de *Scinax* por Faivovich (2002) (ver caráter 3 de Faivovich, 2002 para os demais estados). De acordo com este autor as diferentes morfologias do frontoparietal anteriormente ao *tectum synoticum* podem facilmente estar associadas ao nível de exposição da fontanela. Portanto, este caráter foi codificado de acordo com a morfologia dos frontoparietais anteriormente ao *tectum synoticum*.

0: Fontanela frontoparietal amplamente exposta.

1: Fontanela frontoparietal praticamente coberta pelos frontoparietais, com margens paralelas que deixam um espaço muito estreito vendo a luz da fontanela.

### **07 – Nível de contato dos frontoparietais em sua porção posterior (terço posterior) (Figura 3, apêndice I)**

*Sphaenorhynchus pauloalvini* além de possuir os frontoparietais fusionados posteriormente, também apresenta o *tectum synoticum* ossificado, o que exige muita atenção na observação destes caracteres que, por sua vez, são independentes. Por exemplo, em *Pseudis minuta* os frontoparietais estão fusionados, mas o *tectum synoticum* permanece cartilaginoso. O estado 7.2 apresentado por *Scinax fuscovarius* é semelhante morfológicamente ao apresentado por Faivovich (2002) para *S. icterica* (ver Faivovich, 2002, figura 4D, pag. 377), no qual há um espaço entre as margens internas posteriores que logo em seguida ficam mais próximas, tornando-se paralelas.

- 0: Frontoparietais com suas paredes internas posteriores largamente separadas.
- 1: Frontoparietais com suas paredes internas posteriores escavadas. Semelhante ao estado 0, mas o espaço está mais fechado.
- 2: Frontoparietais com suas paredes internas posteriores separadas, tornando-se paralelas no seu final posterior.
- 3: Frontoparietais com suas paredes internas posteriores paralelas que deixam um espaço muito estreito entre elas.
- 4: Frontoparietais com suas paredes internas posteriores fusionadas.

### **Caráter ordenado**

#### **08 – *Tectum synoticum***

- 0: Cartilaginoso
- 1: Ossificado

#### **09 – Lâmina *perpendicularis* dos frontoparietais**

- 0: Pobremente desenvolvida, sua extensão alcança ou quase alcança o forame orbitonasal.
- 1: Extensa, ultrapassa ventralmente o forame orbitonasal, formando a parede lateral da caixa craniana, mas não alcança o forame óptico.

### **Esfenotimóide**

O esfenotimóide é um osso de origem endocondral visível entre os nasais e frontoparietais em vista dorsal e entre os vômeres e parasfenóide em vista ventral. Na maioria dos anuros o esfenotimóide origina-se como dois elementos que fusionam medialmente para formar um único osso (Trueb, 1973).

## **10 – Grau de ossificação anterior do esfenotimóide**

- 0: Não incorpora o septo nasal.
- 1: Incorpora somente a base do septo nasal.
- 2: Incorpora pelo menos a metade do comprimento do septo nasal.

### **Caráter ordenado**

## **11 – Natureza da crista supraorbital**

A crista supraorbital é uma ramificação cartilaginosa do esfenotimóide que se origina da porção anterodorsal da órbita, onde o esfenotimóide e o *planum anterorbitale* se unem. O fato desta estrutura estar livre do esfenotimóide está (ou pode estar ) associado ao processo de ossificação anterolateral do osso.

- 0: Livre do esfenotimóide. Separada por uma porção não condrificada.
- 1: Contínua ao esfenotimóide através de uma porção condrificada.

## **12 – Comprimento da crista supraorbital**

Em dois exemplares de *Pseudis minuta* (MCP3369 e JF1179) a crista supraorbital estava ausente, no entanto em um indivíduo (*Pseudis minuta* MACN 40042) estava presente e se apresentava extremamente curta. Segundo Da Silva (1998, não publicado), apesar deste elemento não ser restrito somente aos hilídeos, quando presente nestes pode se apresentar curta e simples (gênero *Sphaenorhynchus* obs. pessoal) ou extensa e distalmente expandida (*Xenohyla truncata* obs. pessoal). Neste trabalho considerei como informativo o comprimento da crista supraorbital, e para codificá-lo utilizei como referência o comprimento do menor diâmetro orbital, ou seja, o comprimento do eixo paralelo ao eixo axial do corpo.

- 0: Extremamente curta. Pequena projeção.
- 1: Curta, quase alcança ou alcança 1/3 do menor diâmetro orbital.
- 2: Moderadamente longa, alcança ½ do menor diâmetro orbital.
- 3: Longa, alcança 2/3 do menor diâmetro orbital.

### **Caráter ordenado**

## **Arcada Maxilar**

A arcada maxilar é composta de três pares de ossos intramembranosos: premaxila, maxila e quadradojugal. Todos os hilídeos retem a premaxila e maxila. No entanto, o

quadradojugal pode estar ausente (e.g., *Agalychnis medinae*) ou bastante reduzido em alguns hílídeos (e.g., *Dendropsophus*). As premaxilas suportam os processos alares que se projetam dorsalmente. São basicamente processos verticais, nos quais as cartilagens prenasal superior e inferior da cápsula olfatória repousam. Os processos variam no seu comprimento, formato e no ângulo de orientação. A maioria dos caracteres, aqui escoreados, representam variações relativas ao desenvolvimento, forma e relacionamento entre estes ossos.

### **13 – Altura máxima da *pars facialis* da maxila**

Dentre as sinapomorfias sugeridas por Duellman e Wiens (1992) para *Sphaenorhynchus* está a redução da *pars facialis* da maxila. Resulta difícil codificar a redução *per se* deste elemento, devido a variações em relação ao formato e às extensões posterior e anterior que, em todo caso, podem tratar-se de outros caracteres. Há uma pequena dificuldade de relacionar a altura da *pars facialis* com algum ponto de referência, como as cartilagens nasais, pois algumas espécies apresentam o focinho mais achatado, impedindo a comparação. Assim, eu codifiquei este caráter com base na altura da *pars dentalis* que, neste contexto, me pareceu constante. Embora *S. pauloalvini* tenha compartilhado o mesmo estado com alguns grupos externos (e.g., *Xenohyla truncata*, *Scinax perpusillus*), de maneira grosseira, pareceu que a altura da sua *pars facialis* era intermediária entre os demais *Sphaenorhynchus* e todos os grupos externos. Então, até que se possua uma codificação que permita capturar esta variação eu fiquei com esta que parece definir bem o que ocorre com a altura da *pars facialis*. No entanto, de modo geral, e talvez de acordo com o proposto por Duellman e Wiens (1992), exceto por *S. pauloalvini* (não examinado por Duellman e Wiens, 1992), os *Sphaenorhynchus* examinados apresentaram a *pars facialis* como uma lâmina mais delgada e com as extensões posterior e anterior mais reduzidas se comparadas com os grupos externos e *S. pauloalvini*.

- 0: Altura da *pars facialis* correspondendo de 1x - 1.2 x a altura da *pars dentalis* da maxila.
- 1: Altura da *pars facialis* correspondendo a aproximadamente 2x a altura da *pars dentalis* da maxila. Medida que corresponde a aproximadamente metade da distância entre a maxila e a cartilagem *lingularis*.
- 2: Altura da *pars facialis* correspondendo a aproximadamente 3x a altura da *pars dentalis* da maxila. Distância que quase alcança ou alcança a cartilagem *lingurais*.

### **Caráter ordenado**

### **14 – Extensão posterior da maxila (Modificado de Duellman e Wiens, 1992) (Figura 4, apêndice I)**

Os estados foram definidos de acordo com a relação entre (1) o comprimento da maxila e (2) a distância da ponta da maxila até o ponto de articulação do ramo ventral do esquamosal com o quadradojugal, a qual chamei de distância “X” para facilitar o entendimento.

Usar as bordas do tímpano como referência pode ser complicado, por também depender do ângulo do ramo ventral do esquamosal que pode deslocar o tímpano para frente, como também do formato do tímpano. Eu observei variações relacionadas ao formato e ângulo do ramo ventral do esquamosal entre as espécies que analisei. Como também em relação ao formato do tímpano. Possíveis caracteres futuramente. No entanto, esclareço que na descrição dos estados eu usei as bordas do tímpano apenas como uma referência, que se mostrou eficiente para a visualização dos estados.

O estado 14.0 corresponde a uma sinapomorfia proposta para *Sphaenorhynchus* por Duellman e Wiens (1992), que sugeriram que o processo pós-orbital da maxila é reduzido. Nas espécies de *Sphaenorhynchus* aqui examinadas, exceto por *S. pauloalvini*, há realmente uma redução posterior significativa da maxila em relação aos grupos externos.

Uma informação pertinente é que nos *Sphaenorhynchus* observados há um contato mínimo entre a maxila e o ramo anterior do pterigóide, aparentemente originado pela redução da maxila e não do ramo anterior do pterigóide, quando se comparado aos grupos externos e *S. pauloalvini*.

Nos *Sphaenorhynchus* (exceto *S. pauloalvini*) a maxila não está em contato com o quadradojugal por uma extrema redução da sua porção posterior. Enquanto que em *S. pauloalvini*, *S. carneus* e nas espécies de *Dendropsophus* observadas, além da redução da porção posterior (14.1) há também a redução anterior do quadradojugal (caráter 23) que contribui para a não articulação da maxila com o quadradojugal.

- 0: Maxila com tamanho de aproximadamente 1/2 da distância X. Maxila quase alcança ou alcança a metade da órbita.
- 1: Maxila com tamanho de aproximadamente 2/3 da distância X. Maxila ultrapassa a metade da órbita, mas não alcança a borda anterior do tímpano.
- 2: Maxila com tamanho de aproximadamente de 5/6 da distância X. Maxila alcança ou ultrapassa a borda anterior do tímpano.
- 3: Maxila com tamanho maior que 5/6 da distância X. Maxila quase alcança a borda posterior do tímpano, mas não toca a articulação do quadradojugal com o esquamosal.

**Caráter ordenado**

## 15 – Dentes maxilares e premaxilares

A ausência de dentes maxilares pode estar correlacionada a microfagia (Vences et al., 1998), mas frequentemente não é, como em muitos bufonídeos (Scott, 2005). A ausência de dentes em alguns grupos também pode ser associada a processos heterocrônicos que implicam uma baixa taxa de desenvolvimento concomitante com a redução do tamanho e a interrupção dos últimos passos na diferenciação dos ossos craniais de origem dérmica (Trueb, 1993). No entanto, esta interpretação não pode ser generalizada já que existem formas edentadas hiperossificadas (e.g., Brachycephalidae e Bufonidae) (Fabrezi, 2001).

Em *Sphaenorhynchus carneus*, *S. dorisae* e *S. planicola* os dentes maxilares e premaxilares estão ausentes. As demais espécies analisadas apresentavam maxila e premaxila com dentes.

0: Ausente. Maxila e premaxila edentadas

1: Presente

## 16 – Estrutura dos dentes maxilares e premaxilares

A ontogenia da dentição implica pelo menos duas gerações de dentes: (1) uma primeira geração que não exhibe a condição pedicelada, caracterizada por processos de calcificação que se iniciam no ápice do gérmen dental, se estendem até a base e finalmente fixam o dente na maxila ou premaxila e (2) uma segunda geração (e as que sucedem), correspondendo à condição pedicelada, na que cada gérmen dental apresenta dois centros de calcificação que progridem independentemente (pedicelo basal e coroa distal) e se mantêm separados por uma zona de debilidade não calcificada (Fabrezi, 2001)

Fabrezi (2001) ainda cita que uma característica chamativa de alguns adultos de espécies de pequeno tamanho (e.g., *Phrynobatrachus sulfureogularis*) é a ausência da condição pedicelada que pode ser interpretada pela hipótese de um desenvolvimento lento ou incompleto da dentição com o aparecimento tardio ou ausência de dentes de segunda geração. Sugere ainda que a análise de heterocronia no desenvolvimento da dentição é um tema interessante e que é pouco conhecido e de qual se necessita maior informação, pois o aspecto da variação interespecífica pode estar relacionado com o tempo relativo ou tamanho no qual aparece a condição pedicelada nos espécimes postmetamórficos

Nas espécies de *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. lacteus* e *S. pauloalvini*, foi observada a presença concomitante de dentes pedicelados e não pedicelados no mesmo

exemplar. Talvez o que esteja ocorrendo com o gênero seja uma mescla de gerações de dentes, seguindo Fabrezi (2001).

0: Pedicelados

1: Coexistência de dentes pedicelados e não pedicelados

### **17 – Porcentagem da maxila edentada**

Em uma visão geral dos dentes em *Sphaenorhynchus* vê-se intuitivamente que há um menor número de dentes maxilares se comparado aos grupos externos. No entanto, contar o número de dentes ou definir a extensão dos dentes em função da extensão da maxila tornou-se uma tarefa subjetiva, pois em *Sphaenorhynchus* há uma redução posterior da maxila que faz com que a extensão dos dentes seja dependente da extensão da maxila. Outra observação relacionada é que a pouca presença de dentes de substituição, associada a poucos gérmenes de dentição, e uma baixa fixação dos dentes a *pars dentalis* da maxila pode sugerir que os dentes maxilares em *Sphaenorhynchus* são perdidos e/ou não são substituídos ou há uma baixa taxa de substituição, dificultando também a precisão do número ou extensão dos dentes sobre a maxila. Esta mesma observação é aplicada aos dentes premaxilares (caráter 22). Exemplificando isto, em um *S. lacteus* (TG 2546, adulto) foi observado um grande *gap* entre o penúltimo e último dente maxilar, indicando que possivelmente os dentes foram perdidos ou não substituídos neste espaço, impossibilitando, por sua vez, a contagem e colocando em dúvida a extensão da maxila que verdadeiramente possui dentes. Na tentativa de testar objetivamente a variação, eu codifiquei estritamente a porcentagem da maxila que não possui dentes, pois se mostrou independente da sua extensão posterior e ao mesmo tempo abrange a variação relativa aos dentes sobre a *pars dentalis* da maxila.

Izecksohn (1998) sugeriu que *Xenohyla truncata* compartilhava com *Sphaenorhynchus* o número reduzido de dentes na maxila. De acordo com as minhas análises, *Sphaenorhynchus*, exceto *S. pauloalvini*, e *Xenohyla* compartilharam o estado 17.2.

0: Toda a maxila possui dentes

1: A maxila não possui dentes entre 10.2 % e 11,5% de seu comprimento

2: A maxila não possui dentes entre 14 % e 25% de seu comprimento

3: A maxila não possui dentes entre 35 % e 40% de seu comprimento

4 A maxila não possui dentes em aproximadamente 50% de seu comprimento.

### **Caráter ordenado**

## 18 – Relação entre maxila e premaxila

Lateralmente cada premaxila é sobreposta pela maxila. Neste caráter foi observado o nível de sobreposição entre maxila e premaxila. No estado 18.0 quando estes elementos estão separados, aparentemente a *pars palatina* da premaxila está reduzida, resultando na não sobreposição entre estes elementos. Como ponto de referência para esta observação, a maxila nas espécies que compartilharam este estado (18.0) ultrapassa a crista *subnasalis*, assim como nas espécies que compartilharam os demais estados.

0: Livres, não há sobreposição entre maxila e premaxila.

1: Maxila levemente sobrepondo a premaxila. Sobreposição lateral entre maxila e premaxila mínima, maxila pessimamente cobre a *pars dentalis* da premaxila.

2: Maxila sobrepondo lateralmente a premaxila.

### Caráter ordenado

## 19 – Largura da base do processo alar da premaxila

Duellman e Wiens (1992) sugeriram que a redução do processo alar da premaxila é uma sinapomorfia para *Sphaenorhynchus*. De fato, o processo alar da premaxila nestas espécies apresenta-se bastante afilado se comparado a *Dendropsophus*, *Scinax* e *Scarthyla*. Porém esta redução afirmada por eles parece ser dependente de mais de um caráter. Outras variações que poderiam ser codificadas são, e.g., o formato do corpo do processo alar, bem como o grau de contato entre a porção do processo alar e a cartilagem prenasal superior. Neste caráter, eu apenas codifiquei a largura da base do processo alar em relação à *pars dentalis*.

0: Processo alar da premaxila estreito, base ocupando cerca de 1/3 da *pars dentalis*.

1: Processo alar da premaxila moderadamente largo, base ocupando cerca de 1/2 da *pars dentalis*.

2: Processo alar da premaxila largo, base ocupando cerca de 2/3 da *pars dentalis*.

### Caráter ordenado

## 20 – Orientação da premaxila (Duellman e Wiens, 1992)

Duellman e Wiens (1992) sugeriram que o processo alar da premaxila orientado anteriormente era um estado compartilhado por *Scinax*, *Scarthyla* e *Sphaenorhynchus*. Aqui este estado foi definido em função da premaxila. Uma observação interessante é que todos os *Sphaenorhynchus* observados possuíram, em algum grau, a premaxila orientada

anteriormente. Porém, é perceptível que em *S. caramaschii*, *S. surdus*, *S. orophilus* e *S. bromelicola*, a premaxila estava bastante inclinada anteriormente em relação às outras espécies. O outro extremo da variação foi apresentado por *S. pauloalvini*. Com *S. lacteus*, *S. dorisae*, *S. carneus*, *S. planicola* e *S. prasinus* como intermediários.

0: Dirigido anteriormente.

1: Dirigido dorsalmente, quase perpendicular a maxila.

## **21 – Orientação lateral do processo alar da premaxila (Figura 5, apêndice I)**

0: Dirigido lateralmente.

1: Dirigido dorsalmente.

2: Dirigido ao eixo axial corporal.

## **Caráter não ordenado**

## **22 – Porção da *pars dentalis* da premaxila com dentes**

Em *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. pauloalvini* e *S. prasinus*, quando os dentes estavam presentes se apresentaram separados entre si, ou seja, um *gap* entre eles foi observado e conseqüentemente houve uma redução do número de dentes. Eu verifiquei uma variação na amplitude deste *gap*, com *S. lacteus* apresentando um *gap* mais estreito e *S. palustris*, no outro extremo, com um *gap* bastante amplo. Variando, portanto, o número *per se* de dentes presentes. O que me faz sugerir que uma série maior de exemplares seja necessária para constatar o nível de variação intra e interespecífica. E por sua vez, confirmar ou retificar o que verifiquei neste estudo.

0: Os dentes presentes estão distintamente separados entre si, deixando parte da *pars dentalis* edentada.

1: Dentes cobrindo toda a extensão da *pars dentalis* da premaxila

## **23 – Grau de extensão anterior do quadradojugal**

Este caráter foi codificado com base na relação entre (1) o tamanho do quadradojugal e (2) o comprimento entre o ponto de articulação do ramo ventral do esquamosal com o quadradojugal e a ponta da maxila, medida que chamei de distância “Y” para facilitar a descrição dos estados. Fui capaz de observar que há uma quase imperceptível diferença no tamanho do quadradojugal de algumas espécies de *Sphaenorhynchus* (e.g., *S. bromelicola*, *S. planicola*, *S. surdus*, *S. caramaschii* e *S. pauloalvini*) em relação às outras (e.g., *S. lacteus*, *S.*

*dorissae* e *S. palustris*), com estas últimas apresentando-o um pouco mais comprido anteriormente. Mas, quando foi feita a relação entre as medidas citadas acima, estas espécies compartilharam o mesmo estado, exceto por *S. pauloalvini*. Análises posteriores corroborarão a minha hipótese ou a retificação, dividindo talvez, o estado 23.2 em dois.

*Sphaenorhynchus carneus* compartilhou com *Dendropsophus minutus*, *D. microps* e *D. sanborni* um quadradojugal bastante reduzido. Muito semelhante, no formato, a um botão. Outros hílideos apresentam o quadradojugal ausente, como *Plectrohyla chrysopleura* (Wiens et al., 2005) e *Agalychnis medinai* (Cannatella, 1980).

- 0: Extremamente curto. Quadradojugal tem o formato de um botão.
- 1: Curto. Quadradojugal correspondendo a aproximadamente 5/6 da distância Y. Comprimento que não ultrapassa a borda externa do anel timpânico.
- 2: Longo. Quadradojugal correspondendo de 1/5 a 1/3 da distância Y. Comprimento que ultrapassa o anel timpânico.

### **Caráter ordenado**

#### **24 – Ossificação da porção articular do quadradojugal (Figura 6, apêndice I)**

Em *Sphaenorhynchus* foi notado que o quadradojugal além da redução anterior observada para *S. pauloalvini* (23.1) e *S. carneus* (23.0), apresenta a sua extremidade posterior, a qual corresponde à sua porção articular, condrificada. *S. pauloalvini* mostrou-se polimórfico para este caráter. Quando a porção articular estava ossificada, apresentou-se um pouco mais reduzida se comparado aos grupos externos, exceto por *Dendropsophus minutus* que se assemelhou a *S. pauloalvini*. É conhecido que alguns indivíduos de quatro espécies de *Sphaenorhynchus* (*S. bromelicola*, *S. palustris*, *S. botocudo* e *S. mirim* [Bokermann, 1974; Haddad e Prado, 2005; Caramaschi et al., 2009]) podem conseguir a maturidade sexual enquanto ainda retém algumas características morfológicas larvais, como uma longa cauda. Representando um evento heterocrônico, chamado pedomorfose (como foi descrito no urodela *Ambystoma* [Reilly et al., 1997]), no qual o desaparecimento de algumas características larvais é desacelerado. Como o quadradojugal é um dos ossos que aparecem mais tardiamente, ao final da metamorfose ou logo depois do término da mesma (Trueb, 1973), talvez o grau ossificação deste osso, como também a ausência ou a presença reduzida de outros ossos ou de parte deles (e.g., maxila, vômeres, pterigóide) possa estar associada a este fenômeno. No entanto, esta é uma observação bastante superficial, estudos futuros e mais

detalhados são necessários para avaliar os efeitos da heterocronia neste grupo (ver discussão para mais informações)

Ademais, foi observado que o quadradojugal não estava em contato com o ramo ventral do esquamosal, uma lâmina não condrificada separava o quadradojugal do ramo ventral em todos os *Sphaenorhynchus*, inclusive em *S. pauloalvini*,

0: Cartilaginosa.

1: Ossificada.

## **Esquamosal**

Os esquamosais são ossos intramembranosos pareados, que estão situados nas margens posterolaterais do crânio. Estes ossos são compostos tipicamente por três ramos: (1) o ramo ventral, que é perpendicular a maxila e investe no palatoquadrado lateralmente; (2) o ramo zigomático, anterodorsal, que é extraordinariamente variável no seu desenvolvimento. Usualmente se estende anteroventralmente em direção a maxila, formando uma margem posterior incompleta da órbita e; (3) o ramo ótico, posterodorsal, que investe na margem lateral da crista parótica (Trueb, 1993).

### **25 – Ramo zigomático do esquamosal (Figura 8 A, apêndice I)**

Duellman e Wiens (1992) sugeriram como sinapomorfia para *Sphaenorhynchus* o ramo zigomático ausente ou reduzido. Primeiramente, esclareço que o único estado por eles determinado, trata-se de dois caracteres abordados como: ausência/presença do ramo zigomático do esquamosal (caráter 25) e comprimento relativo do ramo zigomático do esquamosal (caráter 26). A ausência do ramo zigomático foi verificada apenas para *S. carneus* (figura 8 A, apêndice I). Para *Sphaenorhynchus* o formato do ramo zigomático variou intraespecificamente (afilados, delgados, robustos). No entanto, foi informativo apenas em relação ao comprimento, como posto abaixo.

0: Ausente

1: Presente

### **26 – Comprimento relativo do ramo zigomático do esquamosal (Figura 8 B-E, apêndice I)**

O comprimento do ramo zigomático do esquamosal foi definido como uma medida relacionada à largura mínima do ramo ventral do esquamosal. Exceto por *S. pauloalvini* e *S.*

*prasinus*, os *Sphaenorhynchus* apresentaram o ramo zigomático bastante reduzido quando comparado aos grupos externos analisados.

- 0: Muito Curto. Comprimento do ramo zigomático correspondendo de 1x a 1.5x a largura mínima do ramo ventral.
- 1: Curtos. Comprimento do ramo zigomático correspondendo de 2.2x a 2.4x a largura mínima do ramo ventral.
- 2: Moderadamente Longos. Comprimento do ramo zigomático correspondendo de 3.2x a 3.6x a largura mínima do ramo ventral.
- 3: Longos. Comprimento do ramo zigomático correspondendo de 4.8x a 5.8x a largura mínima do ramo ventral.

### **Caráter ordenado**

#### **27 – Ramo ótico do esquamosal (Figura 8 A, apêndice I)**

- 0: Ausente
- 1: Presente

#### **28 – Formato do ramo ótico do esquamosal em vista lateral (Figura 8 B-E, apêndice I)**

- 0: Subtriangular ou cuneiforme
- 1: Quadrangular
- 2: Retangular

### **Caráter não ordenado**

#### **29 – Relação do ramo ótico do esquamosal e a porção ossificada da crista parótica (Faivovich, 2002) (Figura 7, apêndice I).**

A relação entre o ramo ótico e a porção ossificada da crista parótica é de difícil codificação, pois está influenciada tanto pelo grau de expansão da placa ótica quanto pelo grau de ossificação da crista parótica. Assim, a sobreposição da placa ótica com a porção ossificada da crista parótica pode ser resultado de uma placa ótica suficientemente expandida, ou de uma crista parótica ossificada lateralmente, ou de ambos os casos. Nos representantes de *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. pauloalvini* e *S. carneus* (ausente), houve um grande *gap* entre a placa ótica e a crista parótica ossificada, resultante da combinação de uma placa ótica bastante reduzida e de uma crista parótica pobremente ossificada. Em *S. pauloalvini* se comparado aos outros *Sphaenorhynchus* observados, houve a presença do *gap*. No entanto, foi perceptível uma maior expansão lateral da placa ótica juntamente com uma moderada ossificação da crista parótica. Em alguns grupos externos (e.g., *Scinax alter*, *Dendropsophus microps*) a placa ótica estava quase sobrepondo a porção ossificada da crista parótica, apesar

de uma crista parótica bem ossificada e uma placa ótica expandida. Já em outros grupos externos (e.g., *Pseudis minutus*, *Scarthyla goinorum* e *Scinax catharinae*) a placa ótica estava justaposta ou levemente sobrepondo a porção ossificada da crista parótica. Conservadamente, defini dois estados: um, *gap* amplo resultante tanto de uma placa ótica bastante reduzida e de uma crista parótica pobremente ossificada (29.0) e; dois, *gap* estreito entre a placa ótica e porção ossificada da crista parótica ou a placa ótica justaposta ou levemente sobrepondo à porção ossificada da crista parótica (29.1). No estado 29.1, houve um contínuo que vai de um *gap* bastante estreito, que está quase justaposto, até a uma leve sobreposição. Futuramente, este estado pode ser reavaliado ou corroborado. Todavia, mantive esta codificação por estes estados captarem os extremos da variação. Faivovich (2002), ao definir o caráter 4 (ver caráter 4, pág. 378), comentou que há uma variação contínua que vai de um *gap* amplo a uma larga sobreposição entre a placa ótica e a porção ossificada da crista parótica. Deixo claro, que não tenho como comprovar que o *gap* amplo que defini aqui se assemelhe ao visto por este autor. Pois, as espécies de *Scinax* que observei apresentaram-se o estado 29.1. Então, é possível que algumas *Scinax* possam compartilhar o estado 29.0 com *Sphaenorhynchus*, de acordo com o definido aqui. *S. pauloalvini* parece tomar uma posição intermediária entre os estados 29.0 e 29.1, mas não foi possível definir objetivamente, sendo considerado mais similar ao estado 29.0. Ressalto que em algumas espécies de *Scinax* (ver Faivovich, 2002) existe uma larga sobreposição entre a placa ótica e a porção ossificada da crista parótica devido principalmente a uma placa ótica expandida e um crista parótica menos ossificada. Outra observação pertinente que pode ser usada futuramente é que em *Scarthyla goinorum* (TG 2475), *Scinax catharinae* (MCP3427), *S. alter* (MCP1670) e *S. perpusillus* (MNRJ 49645) o ramo ótico se estendeu posteriormente alcançando a margem posterior da crista parótica.

- 0: *Gap* amplo entre a placa ótica e a porção ossificada da crista parótica tanto pela redução da placa ótica quanto pela pouca ossificação da crista parótica
- 1: Entre a placa ótica e a porção ossificada da crista parótica há um *gap* bastante estreito ou a placa ótica levemente sobrepõe à porção ossificada da crista parótica. Ambos, devido tanto uma a placa ótica mais desenvolvida quanto a uma crista parótica mais ossificada que no estado anterior.

## **Pterigóide**

Os pterigóides são ossos palatais de origem intramembranosa. Esses ossos têm três ramos: anterior, posterior e medial, dispostos em formato de Y invertida ( —<). A variação no

pterigóide envolve principalmente a presença e a extensão do desenvolvimento dos ramos anterior e medial (Trueb, 1993).

### **30 – Orientação da porção médio distal do ramo medial do pterigóide (Figura 9, apêndice I)**

Há distintos graus de contato entre o ramo medial do pterigóide e o processo basal. Na maioria dos *Dendropsophus* analisados o ramo medial estava cobrindo em sua maior parte a face anterior do processo basal. Já nos *Sphaenorhynchus*, exceto *S. pauloalvini*, o ramo medial estava cobrindo somente a face ventral do processo basal, assim como em *D. elegans*. Em *S. pauloalvini* e *Scinax alter*, e.g., o ramo medial estava cobrindo tanto a face anterior como a face ventral do processo basal. Devido à dificuldade em discretizar esta relação, decidi codificar apenas a orientação da porção médio distal do ramo medial do pterigóide que variou informativamente em dois estados, como colocado abaixo. Outra característica relevante em relação ao ramo medial do pterigóide é o seu comprimento, que futuramente pode se tornar um caráter, pois consegui observar uma variação no comprimento relacionando-o ao processo basal e a cápsula ótica. Em que nos *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. palustris*, o ramo medial não cobria completamente o processo basal, característica apresentada também por, e.g., *Xenohyla truncata* e *Scarthyla goinorum*. Sendo o outro extremo da variação apresentado por *Phyllodytes luteolus* que apresentou o ramo medial tocando a cápsula ótica. Intermediário a estes possíveis estados, *S. palustris* apresentou-o cobrindo completamente o processo basal, mas não tocando a cápsula ótica.

0: Direcionada posteromedialmente.

1: Direcionada posteriormente.

### **31 – Comprimento do ramo posterior do pterigóide (Figura 9, apêndice I)**

Dentre as sinapomorfias sugeridas por Duellman e Wiens (1992) para *Sphaenorhynchus* estava a ausência do ramo posterior do pterigóide. No entanto, nos exemplares observados, o ramo posterior sempre esteve presente, apesar da sua extrema redução. Característica que leva o ramo posterior do pterigóide a não ter contato com o esquamosal. A variação informativa foi detectada em relação ao comprimento do ramo posterior. Em *S. pauloalvini* este elemento se encontrou mais comprido se comparado aos outros *Sphaenorhynchus*. Os terminais *Dendropsophus sanborni* e *D. elegans* apresentaram o estado intermediário (31.1) entre *S. pauloalvini* (31.2) e os demais *Sphaenorhynchus* (31.0). Uma variação intraespecífica relacionada ao comprimento do ramo posterior foi observada em

três exemplares de *S. prasinus* e *S. lacteus* e dois de *S. dorisae*. Sendo os extremos apresentados por *S. dorisae* (menos desenvolvido) e *S. palustris* (mais desenvolvido) (figuras 9 C e A, apêndice I). Em *S. caramaschii* (CFBH 6937) o comprimento dos ramos posteriores divergiu em cada osso do crânio. Nos estados aqui definidos não houve sobreposição.

0: Extremamente reduzido.

1: Curto. Comprimento alcançando aproximadamente a metade da distância entre o ponto de origem do ramo posterior e a porção distal do quadrado.

2: Moderadamente longo. Comprimento alcançando um pouco mais que  $\frac{3}{4}$  da distância entre o ponto de origem do ramo posterior e a porção distal do quadrado.

3: Longo. Comprimento alcançando a porção distal do quadrado.

### **Caráter ordenado**

### **Vômeres**

Os vômeres são ossos palatais de origem intramembranosa. Esses ossos são pareados e possuem três ramos: ramo anterior e ramos pré e pós-coanal, além de suportar um processo dentífero posteromedial com dentes. Há considerável variação (particularmente entre Neobatrachios) no tamanho do vômer, no desenvolvimento dos seus ramos e na presença e padrão da dentição. A redução vomeriana (exceto em pipídeos) usualmente envolve: 1) perda do processo dentífero; 2) redução ou perda do ramo pós-coanal; 3) redução ou perda do ramo pré-coanal e; 4) perda do ramo anterior, seguindo esta ordem (Trueb, 1973).

Em *Sphaenorhynchus* foi observada uma redução gradual das margens internas dos vômeres em relação às espécies de *Scinax*, culminando em uma separação total do corpo do vômer do processo dentífero, observado em *S. prasinus* (MZUESC 6861) e *S. dorisae* (ZUEC 11096). Salientando que no mesmo exemplar de *S. prasinus* (MZUEC 6861) o processo dentífero estava separado do vômer (35.0) e contíguo através do processo peduncular constrito (35.1), já em *S. planicola* (MNRJ 54808) o processo dentífero estava contínuo (35.2) e contíguo através do processo peduncular constrito (35.1), o que me faz sugerir que pode haver uma tendência a extrema redução do processo peduncular dentro de *Sphaenorhynchus*. Talvez, quando mais exemplares forem analisados ocorram polimorfismos em mais espécies. Foi observado desde a ausência do processo dentífero, em *S. carneus*, até a extrema redução do mesmo em *S. dorisae*. Devido a essas características observadas, resulta difícil ou inapropriado codificar o número de dentes do processo dentífero, já que a redução do mesmo pode implicar na redução do número de dentes, tornando-se características

dependentes uma da outra. No entanto, a extrema redução do processo dentífero não implica na ausência de dentes, pois em *S. dorisae* (ZUEC 11096) foram observados dentes, apesar da extrema redução deste elemento. A presença de um pedúnculo ósseo foi verificada em todas as espécies de *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. carneus* e *S. dorisae* (figura 10 B, apêndice I). Eu não codifiquei a presença desta estrutura, e sim o relacionamento do processo dentífero com o corpo do vômer (caráter 35) que pareceu captar uma variação mais precisa do que estava acontecendo com os vômeres.

Em todos os exemplares de *Sphaenorhynchus* analisados não houve contato entre os vômeres e a premaxila ou maxila. Os processos dentíferos somente estão ausentes em *S. carneus*. Nos *Sphaenorhynchus* em que esta estrutura estava presente (exceto *S. pauloalvini*, e *S. dorisae*), a mesma se apresentou “menos desenvolvida” se comparada aos grupos externos, com *S. planicola* apresentando-a bastante reduzida em relação aos demais *Sphaenorhynchus*. Talvez, se trate de um caráter: “desenvolvimento do processo dentífero”. Mas, por enquanto, não consegui discretizar esta característica objetivamente.

### **32 – Processo dentífero do vômer**

A ausência do processo dentífero foi verificada somente para *Sphaenorhynchus carneus*. Dentro dos grupos externos, *Dendropsophus sanborni* (MCP 4321) se apresentou polimórfico para este caráter. Neste indivíduo, o processo dentífero, quando presente, estava extremamente reduzido. Muito semelhante ao observado para *Sphaenorhynchus dorisae*.

0: Ausente

1: Presente

### **33 – Desenvolvimento do processo dentífero do vômer (Figura 10 e 11 A, apêndice I)**

0: Processo dentífero extremamente reduzido.

1: Processo dentífero diferenciado contendo mais que 3 dentes.

### **34 – Posição do processo dentífero em relação às coanas (Figura 10, apêndice I)**

0: Localizado entre os processos pré e pós-coanal.

1: Localizado medialmente ao processo pré-coanal, ao nível da parede lateral externa da órbita.

2: Localizado posteriormente ao processo pré-coanal, ao nível da parede lateral interna da órbita.

### **Caráter não ordenado**

### **35 – Relacionamento do processo dentífero com o corpo do vômer (Figura 10, apêndice I)**

- 0: Processo dentífero separado do corpo principal do vômer.
- 1: Processo dentífero contíguo ao corpo principal do vômer através de uma constrição do processo peduncular.
- 2: Processo dentífero contínuo ao corpo principal do vômer.

### **Caráter ordenado**

### **36 – Relacionamento medial entre os processos dentíferos**

- 0: Processos dentíferos separados medialmente.
- 1: Processos dentíferos justapostos medialmente.

### **37 – Dentes vomerianos**

Em *Sphaenorhynchus* os dentes vomerianos estavam ausentes em *S. carneus* e *S. dorisae*. Para *S. carneus* eu considerei este caráter como inaplicável, pois esta espécie não possui processo dentífero. No entanto, Scott (2005) aponta que a presença do processo dentífero do vômer é independente da presença de dentes vomerianos. *S. dorisae* é polimórfico para este caráter. Já que apesar de possuir um processo dentífero bastante reduzido, em um indivíduo analisado (*S. dorisae* ZUEC 11096) os dentes estavam presentes (figura 11 A, apêndice I).

- 0: Ausente
- 1: Presente

### **38 – Estrutura dos dentes vomerianos**

- 0: Não pedicelados
- 1: Pedicelados

### **39 – Relação entre as margens mediais do vômer**

Há muita variação na porção medial dos vômeres, mas o que está codificado é a variação definida enquanto relação entre os eixos internos. Tomando como referência o plano medial (septo nasal) foi quantificada quão as margens mediais dos vômeres distam entre si a partir do plano medial.

- 0: Distam entre si aproximadamente 20° (Dirigido a premaxila).

- 1: Distam entre si aproximadamente 45° (Dirigido ao ponto de união entre premaxila e maxila).
- 2: Distam entre si em um ângulo superior a 45° (Dirigido a maxila)

### **Caráter não ordenado**

#### **40 – Disposição dos dentes vomerianos sobre o processo dentífero (Figura 11, apêndice I)**

No estado 40.0 foi observado que os dentes dispostos irregularmente em *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. dorisae*, estão associados a um processo dentífero bastante volumoso se comparado ao visto no estado 40.1.

- 0: Dispostos irregularmente.
- 1: Dispostos em uma fileira contínua.

### **Palatinos**

Os palatinos são ossos pareados subjacentes ao *planum antorbitale* que usualmente articulam com a maxila e esfenotimóide e são desprovidos de dentes.

#### **41 – Palatinos**

Duellman e Wiens (1992) sugeriram como sinapomorfia para *Sphaenorhynchus* a ausência ou redução dos palatinos. Mas, não descrevem objetivamente o que seria esta redução dos palatinos. Em acordo com Duellman e Wiens (1992), foi constatada a ausência de palatinos nos exemplares de *S. carneus* observados. *S. dorisae* se apresentou polimórfico para este caráter, com o exemplar TG 2835 não apresentando estes ossos e o ZUEC 11096 apresentando-os reduzidos a pequenos filetes ossificados. Barg (2003, não publicado) mostrou na figura 18 (pág. 59) a presença de palatinos em *S. carneus* (KU 183709), que se apresentaram semelhantes ao observados por mim para *S. dorisae* (ZUEC 11096). Considerando a observação de Barg (2003, não publicado), *S. carneus* também seria polimórfico para este caráter, o que pode sugerir que o polimorfismo relacionado a este caráter seja um fato comum para o gênero. Além de variações relacionadas ao comprimento codificadas no caráter 42, foram observadas variações no formato e na largura dos palatinos em *Sphaenorhynchus*. Talvez, estas três características (comprimento, formato e largura) possam representar a dita redução dos palatinos sugerida por Duellman e Wiens (1992). No entanto, aqui foi codificado objetivamente somente o comprimento dos palatinos (caráter 42).

0: Ausentes

1: Presente

#### **42 – Comprimento relativo dos palatinos**

0: Palatinos reduzidos a um pequeno filete ossificado.

1: Palatinos cobrindo somente  $\frac{3}{4}$  do *planum anterorbitale*.

2: Palatinos cobrindo a margem anterior ventral da órbita.

3: Palatinos se estendendo medialmente e alcançando a porção lateral do esfenotimóide (alcançando o forame orbitonasal).

4: Palatinos se estendendo medialmente e alcançando a porção neurocranial.

#### **Caráter ordenado**

#### **Parasfenóide**

O parasfenóide é um osso único e medial que está por baixo da cartilagem da superfície ventral da caixa craniana. Em todos os anuros, exceto em pipóides, o parasfenóide suporta os processos alares posterolaterais que são subjacentes a porção anterior da cápsula ótica, desta forma este osso na maioria dos anuros tem formato de “T”.

#### **43 – Comprimento relativo do processo cultriforme**

O comprimento do processo cultriforme do parasfenóide foi medido utilizando como ponto de referência o forame orbitonasal. Cada forame orbitonasal forma uma passagem para um dos ramos do nervo trigeminal dentro da cavidade nasal, furando a parede lateral do esfenotimóide no ponto de inflexão da margem anteromedial da órbita (Trueb, 1970).

0: Final anterior do processo cultriforme ao nível do forame orbitonasal.

1: Final anterior do processo cultriforme posterior ao forame orbitonasal.

#### **44 – Porcentagem de margens paralelas do processo cultriforme**

Somente em *Sphaenorhynchus bromelicola* (MZUSP 101518) as margens do processo cultriforme apresentaram-se paralelas. Não houve sobreposição entre os estados.

0: Margens do processo cultriforme paralelas.

1: Margens do processo cultriforme paralelas em 75% a 90% do comprimento total do processo.

2: Margens do processo cultriforme paralelas em aproximadamente ou 70% do comprimento total do processo.

- 3: Margens do processo cultriforme paralelas em 55% a 60% do comprimento total do processo.

#### **Caráter ordenado**

#### **45 – Formato da porção anterior do processo cultriforme**

- 0: Triangular
- 1: Redondo
- 2: Escavado ou esculpido
- 3: Truncado

#### **Caráter não ordenado**

#### **46 – Comprimento relativo do processo posteromedial do parasfenóide**

- 0: Processo posteromedial extremamente reduzido, pobremente diferenciado.
- 1: Processo posteromedial mais curto que a metade da distância entre a margem posterior do processo alar e o *foramen magnum*.
- 2: Processo posteromedial alcançando a metade da distância entre a margem posterior do processo alar e o *foramen magnum*.

#### **Caráter ordenado**

#### **47 – Comprimento relativo dos processos alares do parasfenóide**

Eu codifiquei o comprimento dos processos alares utilizando como ponto de referência a fossa condilóide. Esta fossa está situada lateralmente a cada côndilo occipital, e um grande forame jugular, o qual abriga os nervos vagus e glossofaríngeal, está localizado dentro da fossa condilóide e se abre através da parede medial posterior ao forame perilinfático superior. Um grande forame perilinfático inferior penetra na parede posterior da cápsula ótica lateral ao forame jugular (Maglia et al., 2007).

- 0: Extremamente curtos. Não alcançam a fossa condilóide.
- 1: Curtos. Ao nível da fossa condilóide.
- 2: Longos. Ultrapassa a fossa condilóide.

#### **Caráter ordenado**

#### **48 – Processo posterolateral da crista parótica**

Este processo delgado e cartilaginoso se estende posteriormente da margem posterolateral da crista parótica.

- 0: Ausente

1: Presente

### ***Aparatus Plectral***

O *aparatus plectral* inclui complexas estruturas condutoras de som, como: *annulus* timpânico (anel timpânico *sensu* Cannatella, 1985; Duellman e Trueb, 1994); *operculum* (localizado na porção posterior da fenestra *ovalis*); *pars interna plectri* que articula com o *operculum*; *pars media plectri* (“stapes” *sensu* Trueb, 1993, Columela *sensu* Cannatella, 1985, Hall e Larsen, 1998; pseudocolumela *sensu* Gaudin, 1969); e *pars externa plectri*.

#### **49 – Formato do *annulus* timpânico**

0: Anel timpânico raso

1: Anel timpânico profundo e expandido internamente. A superfície medial é inusualmente côncava.

#### **50 – Formato da *pars externa plectri***

Duellman e Wiens (1992) observaram a *pars externa plectri* com formato arredondado como uma sinapomorfia para *Sphaenorhynchus*. O que corresponde ao estado 50.2 definido como “completamente expandido”. Em alguns exemplares de *S. dorisae* foi observado que o formato da *pars externa plectri* não é necessariamente arredondado, e sim um pouco ovalado. Então, de certa forma, o estado está melhor definido como foi determinado aqui.

0: Cilíndrico

1: Porção médio-distal expandida

2: Completamente expandido

#### **Caráter ordenado**

#### **51 – Relação entre *pars externa plectri* e o *annulus* timpânico (Duellman e Wiens, 1992) (Figura 12 C-E, apêndice I)**

Outra sinapomorfia proposta por Duellman e Wiens (1992) para *Sphaenorhynchus* foi a *pars externa plectri* entrando posteriormente ao *annulus* timpânico. Como demonstrado na figura 12 E (apêndice I), a *pars externa plectri* está entrando posterodorsalmente ao *annulus* timpânico, em vez de dorsalmente como visto nos grupos externos: *Dendropsophus*, *Scinax*, *Scarthyla* e *Phyllodytes* (figuras 12 C e D, apêndice I). No entanto, *Pseudis minuta* e *Xenohyla truncata* compartilharam o mesmo estado com *Sphaenorhynchus*.

0: *Pars externa plectri* entrando dorsalmente ao *annulus* timpânico.

1: *Pars externa plectri* entrando posterodorsalmente ao *annulus* timpânico.

## **52 – Orientação da *pars media plectri* em relação ao eixo transversal do corpo**

Além da variação descrita no caráter 51, eu notei que, quando observada posteriormente a *pars media plectri* se apresentou direcionada ventralmente ou dorsalmente usando como referência o plano transversal do corpo. Este caráter se mostrou independente do anterior. Pois, por exemplo, em *Pseudis minuta*, apesar da *pars externa plectri* entrar posterodorsalmente ao *annulus* timpânico, a *pars media plectri* está orientada dorsalmente em relação ao eixo transversal corporal.

0: Orientado ventralmente

1: Orientado dorsalmente

## **53 – Expansão da porção distal da *pars media plectri* (Figura 12 A-B, apêndice I)**

Como mostrado na figura 12 E (apêndice I) a porção distal da *pars media plectri* não está expandida (53.2), mas a *pars externa plectri* está completamente expandida (50.2), mostrando a independência entre estes dois caracteres. Entre outros exemplos, está *Dendropsophus sanborni* que apresentou os estados 50.1 e 53.1 e; *Sphaenorhynchus dorisae* com os estados 50.2 e 53.1, confirmando a independência dos caracteres.

0: Porção distal da *pars media plectri* expandida. Expansão equivalente a aproximadamente 2x a menor largura do corpo da columela.

1: Porção distal da *pars media plectri* levemente expandida. Expansão de 1.2x a 1.3x a menor largura do corpo da columela.

2: Porção distal da *pars media plectri* não expandida. Porção distal cilíndrica com largura aproximadamente igual ou igual a largura do corpo principal da columela.

### **Caráter ordenado**

## **54 – Relação entre *pars interna plectri* e o *operculum* (Figura 12 A-B, apêndice I)**

0: *Pars interna plectri* cobrindo a porção dorsal do *operculum*.

1: *Pars interna plectri* cobrindo somente um pequeno espaço livre entre o *operculum* e a margem da fenestra oval. Região equivalente a porção médio lateral do *operculum*.

## **55 – Porção proximal da *pars media plectri* (Figura 12 A-B, apêndice I)**

Em *Sphaenorhynchus*, aparentemente, desapareceu uma parte da placa basal da *pars media plectri* deixando um espaço entre a sua porção basal (porção proximal) e o *operculum*. Desta forma, a porção proximal apresentou somente o processo dorsal, definindo o estado

55.0: simples. Nos grupos externos esta porção apresentou os processos dorsal e ventral que a deixa com o formato característico de “footplate”. Em *S. caramaschii* e *S. surdus* a porção proximal da *pars media plectri* apresentou um formato diferente dos outros *Sphaenorhynchus*. O que aparentemente aconteceu nestas espécies foi uma redução maior do processo dorsal que levou a porção proximal a apresentar um formato côncavo. O que pode ser confundido com a presença do processo ventral. *S. pauloalvini* se apresentou mais semelhante à *Scinax*, *Scarthyla* e *Pseudis*. Mas, o processo ventral pareceu estar menos desenvolvido. Em *S. lacteus* houve uma maior expansão do processo dorsal se comparado aos outros *Sphaenorhynchus*. Entretanto, igualmente não possui o processo ventral abraçando o *operculum*.

0: Simples

1: Bicapitada

#### **56 – Mineralização da *pars interna plectri* (Figura 12 A-B, apêndice I)**

0: Completamente mineralizado.

1: Parcialmente mineralizado.

2: Não mineralizado.

#### **Caráter ordenado**

#### **Mandíbula**

A mandíbula em anuros é relativamente simples e formada por dois hemiarcos mandibulares localizados sobre as margens anterior e lateral do crânio. A mandíbula é composta por um elemento cartilaginoso: a cartilagem de Meckel e; mais três pares de elementos ósseos: ossos mentomekelianos, dentários e anguloespleniais.

#### **57 – Processo coronóide**

0: Ausente

1: Muito reduzido. O processo coronóide está presente como uma projeção baixa.

2: Desenvolvida. O processo coronóide está presente como uma estrutura proeminente.

#### **Caráter ordenado**

#### **58 – Relacionamento entre anguloespleniais e dentário**

0: Em contato ou muito adjacentes. Um espaço muito pequeno é visível entre os ossos. A cartilagem de meckel está coberta pelo anguloespleniais.

1: Sem contato. Um espaço notável é visível. A cartilagem de meckel está descoberta

## **Cartilagens Nasais**

As cartilagens nasais e a septomaxila (elemento ósseo) formam uma armação estrutural que fornece suporte aos sacos e ductos nasais. Os ossos: premaxila, maxila, vômeres e nasais dão suporte e proteção as cartilagens nasais.

### **59 – Natureza da conexão entre cartilagem prenasal superior e cartilagem alar**

A face convexa anterior da cartilagem alar estava sincondroticamente fusionada a cartilagem prenasal em *S. carneus* e *S. pauloalvini*, estado compartilhado com os grupos externos. Enquanto que nas demais espécies de *Sphaenorhynchus* houve uma separação ocasionada por um tecido não condricificado. Esta afirmação teve como base a não coloração do tecido pelo azul de alcian. Sei que isto pode acarretar dúvidas sobre a natureza do tecido e que seria necessário realizar um estudo histológico para comprovar esta observação.

0: Separado por um tecido não condricificado.

1: Contínuo.

### **60 – Formato da cartilagem alar (Figura 13 A, apêndice I)**

0: Retangular. Expandido anteroposteriormente.

1: Quadrada. Tão expandida anteroposteriormente quanto laterolateralmente.

### **61 – Ponto de contato da cartilagem prenasal inferior no processo alar da premaxila (Figura 13 A-B, apêndice I)**

A cartilagem prenasal inferior se estende anteroventralmente da porção ventral do *solum nasi* para apoiar-se no lado posterior do processo alar da premaxila. Foram observadas variações tanto em relação a sua articulação com o *solum nasi* (caráter 62) quanto ao seu contato com o processo alar da premaxila (caráter 61).

0: Apoiando-se na porção basal do lado posterior do processo alar da premaxila.

1: Apoiando-se na metade do lado posterior do processo alar da premaxila.

### **62 – Orientação da porção da cartilagem prenasal inferior que articula com o *solum nasi***

0: Orientada mediolateralmente

1: Orientada lateralmente

### **63 – Formato da cartilagem prenasal medial (Figura 13 C, apêndice I)**

- 0: Subcilíndrica
- 1: Subtriangular
- 2: Triangular expandido
- 3: Expandido

**Caráter não ordenado**

**64 – Comprimento da cartilagem prenasal medial**

Este caráter foi codificado em relação ao processo alar da premaxila.

- 0: Ao nível do processo alar da premaxila.
- 1: Ultrapassando o processo alar da premaxila.

**65 – Formato da cartilagem oblíqua em vista dorsal (Figura 13 C, apêndice I)**

- 0: Com uma lâmina cartilaginosa que se projeta lateralmente em direção a cartilagem prenasal superior.
- 1: Lâmina cartilaginosa lateral está mais anterior e menos desenvolvida, dando um aspecto mais côncavo a margem lateral da cartilagem oblíqua.
- 2: Semelhante ao estado anterior, mas anteriormente termina antes do limite anterior da cartilagem alar e a concavidade apresenta-se mais rasa, quase reta.

**Caráter não ordenado**

**66 – Lâmina cartilaginosa que se estende desde o ramo cartilaginoso até a margem inferior da cartilagem oblíqua (Figura 13 A-B, apêndice I)**

Esta lâmina estava presente em *Sphaenorhynchus caramaschii*, *S. surdus*, *S. orophilus*, *S. palustris*, *S. bromelicola*, *S. lacteus* e *S. pauloalvini*. Estado compartilhado com as espécies de *Dendropsophus* analisadas (*Dendropsophus minutus*, *D. elegans*, *D. sanborni* e *D. microps*).

- 0: Ausente
- 1: Presente

**67 – Conexão entre a lâmina *nariocoanalis* e a parede postnasal (Figura 13 B, apêndice I)**

Jurgens (1971) observou que em *Spea intermontana* (usando *Scaphiopus intermonatanus*) a cartilagem oblíqua se estende na direção postero-latero-ventral e se une a lâmina inferior enquanto *planum terminale*. A porção posteroventral da lâmina cartilaginosa é contínua posteriormente como uma faixa de cartilagem que se funde com a região lateral do

teto da porção mediana perfurada da parede postnasal. Por formar uma ponte entre a lâmina nariocoanal (Jarvik, 1942) e a parede postnasal, limita a fenestra *endocoanalis lateralis* e ao mesmo tempo representa a borda ventrolateral da fenestra *nasolateralis*. Uma condição comparável existe em larvas de *Pelobates* (Born, 1876), mas a conexão é perdida no adulto, condição que em *Scaphiopus* pode indicar neotenia (Jurgens, 1971).

Da Silva (1998, não publicado) usou o nome processo *lingularis* para designar a mesma estrutura observada por Jurgens (1971). No entanto, não concordei com a sua nomeação e decidindo por seguir Jurgens (1971) determinei o caráter como a conexão da lâmina *nariocoanalis* com a parede postnasal (figura 13 B).

0: Lâmina *nariocoanalis* conectada a parede postnasal.

1: Lâmina *nariocoanalis* não conectada a parede postnasal.

## **Complexo Hiolaringeal**

O complexo hiolaringeal é formado por duas unidades: os *aparatus* hióide e laringeal. O *aparatus* hióide (ou hiobranquial) está localizado ventralmente a boca sob o arco mandibular. Basicamente consiste de um corpo central referido como placa hióide que está ligada a superfície ventral da cápsula ótica através de um par de processos delgados e curvados, os hiales (ou *cornua*), que se originam da porção anterolateral da placa. Os hiales podem possuir processos anteriores sob suas margens anteriores no ponto onde os hiales se curvam posterodorsalmente. Além dos hiales, a placa hióide possui três pares de processos laterais: anterolateral, posterolateral e posteromedial. O *aparatus* laringeal está localizado entre os pulmões e a cavidade bucal, sendo composto por um par de cartilagens aritenóides que são suportadas pelo anel cricóide. Uma corda vocal está associada a cada cartilagem aritenóide e o anel cricóide forma a base que fornece suporte para os aritenóides. Adicionalmente, associados ao anel cricóide estão os processos branquial, esofágico e cardíaco; localizados lateralmente, posteromedialmente e anteromedialmente, respectivamente.

### **68 – Processo anterior do hiale (Figura 14 B, apêndice I)**

Duellman e Wiens (1992) atestaram que a presença do processo anterior do hiale era um estado compartilhado por *Scinax* e *Scarthyla*. No entanto, este processo também estava

presente em *Sphaenorhynchus pauloalvini* e em outros grupos externos como *Phyllodytes luteolus*, *Xenohyla truncata* e *Pseudis minuta*.

0: Ausente

1: Presente

#### **69 – Formato do processo anterior do hiale (Figura 14 B-C, apêndice I)**

0: Delgado

1: Ramificado

2: Laminar

#### **Caráter não ordenado**

#### **70 – Formato do processo anterolateral (Figura 14 A-C, apêndice I)**

0: Em formato de lâmina delgada

1: Expandido distalmente

2: Não expandido distalmente

#### **Caráter não ordenado**

#### **71 – Comprimento do processo posterolateral em machos**

O comprimento do processo posterolateral foi medido em relação ao comprimento total do processo posteromedial, ou seja, incluindo também a porção cartilaginosa. Foi observado que em *Sphaenorhynchus* o comprimento do processo posteromedial em fêmeas diferiu do apresentado pelos machos da mesma espécie. Portanto, foram utilizados somente os machos para codificar este caráter.

0: Processo posterolateral curto. De 6x a 6.5x menor que comprimento total do processo posteromedial.

1: Processo posterolateral moderadamente longo. De 3x a 3.5x menor que o comprimento total do processo posteromedial.

2: Processo posterolateral alongado. De 2x a 2.5x menor que comprimento total do processo posteromedial.

#### **Caráter ordenado**

#### **72 – Formato do Sinus Hioglossal (Liem, 1970; Scott, 2005) (Figura 14, apêndice I)**

0: Sinus hioglossal em formato de “U”

- 1: *Sinus* hioglossal em formato de “V”
- 2: *Sinus* hioglossal em formato de “O”, quase retangular
- 3: *Sinus* hioglossal arredondado. Semelhante ao estado anterior, mas difere por ser mais arredondado.

#### **Caráter não ordenado**

#### **73 – Hiale (Duellman e Wiens, 1992) (Figura 14, apêndice I)**

Duellman e Wiens (1992) sugeriram que os hiales curvados medialmente caracterizam uma sinapomorfia para *Sphaenorhynchus*. Em *Sphaenorhynchus*, exceto *S. pauloalvini* e *S. carneus*, os hiales se apresentaram fortemente curvados medialmente. Da Silva (1998, não publicado) sugeriu que os hiales estavam sobrepostos nas espécies de *Sphaenorhynchus* analisadas por ele. Adicionalmente, eu verifiquei que nas espécies que compartilharam o estado 73.2 as margens anteriores dos hiales podem estar levemente sobrepostas, tocando-se ou cruzando-se fortemente, sendo que estas características variam inter e intraespecificamente. No caso de *S. carneus*, como Da Silva (1998, não publicado) verificou que os hiales estavam sobrepostos, pode ser que este terminal seja considerado polimórfico para os estados 73.2 e 73.3 deste caráter. No entanto, é preciso examinar mais espécies para se comprovar esta observação.

- 0: Hiales paralelos.
- 1: Hiales divergentes.
- 2: Hiales fortemente curvados medialmente.
- 3: Hiales levemente curvados medialmente.

#### **Caráter não ordenado**

#### **74 – Altura da placa hióide (Figura 14 B, apêndice I)**

A altura da placa hióide foi codificada através da relação da longitude máxima pela largura mínima da placa hióide. *Sphaenorhynchus* apresentou a placa hióide com uma altura menor do que a observada em *Scinax* e *Scarthyla* e maior do que em *Pseudis*. Com *S. planicola* apresentando a maior altura da placa hióide dentro de *Sphaenorhynchus*.

- 0: Altura correspondendo a aproximadamente 1/6 da largura mínima da placa hióide.
- 1: Altura correspondendo de 1/3 a 2/3 da largura mínima da placa hióide.
- 2: Altura correspondendo de 1x a 1.3x a largura mínima da placa hióide.

#### **Caráter ordenado**

### **75 – Ponto de prendimento do hiale ao crânio**

- 0: Hiale se prendendo ao processo basal.
- 1: Hiale se prendendo no limite do processo basal e cápsula ótica.
- 2: Hiale se prendendo somente à cápsula ótica.

### **Caráter ordenado**

Eu optei por usar somente os machos para codificar os caracteres **76-84**. Pois, as laringes dos machos são maiores e mais desenvolvidas do que as das fêmeas, facilitando a observação e definição dos estados. Além de que, as laringes das fêmeas disponíveis estavam pobremente coradas de azul de alcian. No entanto, eu saliento que observações mais acuradas sobre este sistema de caracteres em fêmeas são necessárias para afirmar diferenças relacionadas à morfologia da laringe entre os semaforontes.

### **76 – Processo esofágico em machos (Faivovich, 2002) (Figura 16 A-B, apêndice I)**

- 0: Ausente
- 1: Presente

### **77 – Orientação do processo esofágico (Figura 16 B, apêndice I)**

Outra característica interessante observada em relação ao processo esofágico em *Sphaenorhynchus* foi o seu comprimento. Por exemplo, *S. orophilus* e *S. pauloalvini* compartilham o estado 77.2. Entretanto, o comprimento desta estrutura é bastante diferente entre estas espécies. Em *S. pauloalvini*, como demonstrado na figura 16 B (ver apêndice I), este elemento apresentou-se além de direcionado posteriormente, bastante alongado se comparado a *S. orophilus*, o qual neste exemplar estava claramente mais curto.

- 0: Dirigido ventralmente. O processo esofágico é aproximadamente perpendicular ao eixo axial da cartilagem do anel cricóide
- 1: Dirigido dorsalmente. O processo esofágico é perpendicular ao eixo axial da cartilagem do anel cricóide
- 2: Dirigido posteriormente. O processo esofágico é paralelo ao eixo axial da cartilagem do anel cricóide
- 3: Dirigido obliquamente. O processo esofágico faz aproximadamente um ângulo de 45° com o eixo axial da cartilagem do anel cricóide

### **Caráter não ordenado**

### **78 – Processo cardíaco do cricóide (Faivovich, 2002)**

0: Não curvado ventralmente

1: Curvado ventralmente

### **79 – Formato do processo cardíaco (Faivovich, 2002) (Figura 15, apêndice I)**

Faivovich (2002) foi quem primeiramente codificou o formato do processo cardíaco para as espécies de *Scinax* e grupos externos por ele observados. Os estados 79.0, 79.3 e 79.5 correspondem aos estados 13.3, 13.2 e 13.0 originalmente descritos por Faivovich (2002) (ver caráter 13 em Faivovich, 2002, pág. 378). O estado “formato de U”, definido por este autor para *Aplastodiscus perviridis*, *Smilisca baudini* e *S. sila*, foi observado para *Sphaenorhynchus pauloalvini*. O processo cardíaco em formato de “V” foi verificado apenas para *Scinax alter*. Nas duas espécies que compartilharam o estado 79.1 (*S. lacteus* e *S. planicola*) ocorreu uma pequena variação relacionada à projeção medial do processo cardíaco, com *S. lacteus* apresentando-a mais desenvolvida e *S. planicola*, no outro extremo da variação, como mostrado nas figuras 15 A-B.

0: Subcilíndrico, da mesma largura ou levemente mais delgado que as partes adjacentes .

1: Laminar, com uma projeção medial

2: Laminar, da mesma largura ou levemente mais delgado que as partes adjacentes do anel.

3 Laminar, mais largo que as partes adjacentes do anel.

4: Formato de “V”

5: Formato de “U”

### **Caráter não ordenado**

### **80 – Número de suportes internos do aritenóide (Faivovich, 2002) (Figura 16 A-C, apêndice I)**

0: Ausente

1: Um medial

2: Três, um medial e dois nos terços distais

### **Caráter ordenado**

### **81 – Barra de cartilagem suportando cada ponta das cordas vocais (Figura 16 C, apêndice I)**

Este caráter foi definido segundo Trewavas (1993), que observou para *Scinax rubra* (usando *Hyla rubra*) uma curta barra de cartilagem suportando cada ponta das cordas vocais.

0: Ausente

1: Presente

### **82 – Massas fibrosas**

0: Não condrificada

1: Condrificada

### **83 – Formato das massas fibrosas (Figura 16 D-E, apêndice I)**

0: Subtriangular. Localizada medialmente ao eixo axial.

1: Elongada. Localizada paralelamente ao eixo axial, ocupa um pouco menos que a metade do espaço interno do aritenóide.

### **84 – Processo cartilaginoso do aritenóide localizado centralmente (Figura 16 C-D, apêndice I)**

Trewavas (1993) observou também para *Scinax ruber* (usando *Hyla rubra*) um processo do aritenóide que suporta o *frenulum*, estrutura presente em machos de *Sphaenorhynchus*.

0: Ausente

1: Presente

Observação: Os estados dos caracteres **76**, **79** e **80** assumidos para *Scinax catharinae* e *S. fuscovarius* foram codificados de acordo com a matriz apresentada por Faivovich (2002) (ver caracteres 11, 13 e 18, pag.371)

## **Cintura Peitoral**

A cintura peitoral está localizada posteriormente ao crânio e abraça a coluna vertebral. Pode ser dividida em duas regiões: a região dorsal (correspondente a supraescápula-escápula) a fossa glenóide (cavidade para articulação dos membros anteriores) e a região ventral. A região ventral é dividida em: áreas prezonal, zonal e postzonal. Na área prezonal encontra-se o *omosternum*, elemento cartilaginoso médioventral. A área zonal é constituída por elementos cartilagosos: epicoracóides e procoracóides e; elementos ósseos: clavículas e coracóides. Na área postzonal, por sua vez, está o *sternum*, elemento cartilaginoso único que constitui esta região.

### **85 – Comprimento dos coracóides (Figura 18, apêndice I)**

Duellman e Wiens (1992) sugeriram como sinapomorfia que os coracóides e as clavículas de *Sphaenorhynchus* eram alongadas. Em acordo com estes autores, realmente nota-se que estes dois elementos se apresentaram em *Sphaenorhynchus*, exceto por *S.pauloalvini*, mais compridos se comparados a maioria dos grupos externos analisados. No entanto, somente esta observação não é suficiente para descrever os estados objetivamente. Então, foi utilizada a razão entre o comprimento dos coracóides e o comprimento rostro-cloacal (CRC) para definir os estados deste caráter e do caráter 86. Quando codificado, *Phyllodytes luteolus* compartilhou com *Sphaenorhynchus* (exceto *S. pauloalvini*) os coracóides alongados.

0: Curtos. Coracóides com comprimento correspondente a 0.10x - 0.14x o CRC.

1: Alongados. Coracóides com comprimento de no mínimo 0.17x o CRC.

#### **86 – Comprimento das clavículas (Figura 18, apêndice I)**

Da mesma forma que o caráter 85, foi utilizada a razão entre o comprimento das clavículas e o comprimento rostro-cloacal (CRC) para definir os estados deste caráter. *Phyllodytes luteolus* também compartilhou com *Sphaenorhynchus* (exceto *S. pauloalvini*) as clavículas alongadas.

0: Curtas. Clavículas com comprimento correspondendo a 0.08x - 0.10x o CRC.

1: Alongadas. Clavículas com comprimento de no mínimo 0.15x o CRC.

#### **87 – Comprimento das escápulas (Figura 17, apêndice I)**

Em contrapartida aos coracóides e clavículas alongadas, *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. pauloalvini* e *S. carneus*, apresentaram as escápulas curtas (87.0). Dentro destas espécies de *Sphaenorhynchus* que compartilham o estado 87.0, houve um contínuo na variação, onde *S. lacteus* possuía a escápula mais curta e *S. planicola* a mais longa. O comprimento das escápulas foi medido em relação à altura da porção que contacta a supraescápula. Os estados foram separados por *gaps*. *Xenohyla truncata* e *Phyllodytes luteolus* compartilharam as escápulas curtas (87.0) com *Sphaenorhynchus*.

0: Curtas. Escápula com comprimento de 1.15x a 1.4x a altura da porção que contacta a supraescápula

1: Alongadas. Escápula com comprimento de 1.75x a 2.20x a altura da porção que contacta a supraescápula

#### **88 – Margens anteriores da escápula (Figura 17 A-B, apêndice IV)**

- 0: Côncavas, com uma constrição medial
- 1: Oblíquas ao eixo axial do corpo.

**89 – Processo anterior da supraescápula (Tyson, 1987)**

- 0: Ausente
- 1: Presente

**90 – Expansão da *pars acromialis* (Figura 17, apêndice I)**

*Xenohyla truncata* e *Pseudis minuta* compartilharam o estado 90.0. Ao contrário das demais espécies analisadas.

- 0: *Pars acromialis* com quase o dobro de expansão da *pars glenoidalis*.
- 1: *Pars acromialis* igual ou levemente mais expandida que a *pars glenoidalis*.

**91 – Formato da porção distal do *sternum* (Figura 18, apêndice I)**

- 0: Expandida bilobada. Encontra-se dividida medialmente.
- 1: Expandida simples.

**92 – Formato do corpo do *sternum* (Figura 18, apêndice I)**

Em *Sphaenorhynchus* o corpo do *sternum* tinha um formato geral de uma espátula, expandido proximalmente com um ligeiro estreitamento médio distal. *S. carneus* o apresentou como um formato mais delgado, no extremo da variação (92.0).

- 0: Estilete, muito delgado
- 1: Delgado, quase tão expandido proximalmente quanto médio distalmente.
- 2: Delgado, mais expandido proximalmente, sofrendo um estreitamento médio distal brusco.
- 3: Largo, sua extremidade proximal é mais larga que no estado anterior e o estreitamento médio distal é mais leve.
- 4: Largo, como uma expansão mais ou menos de mesma largura que sua longitude.

**Caráter não ordenado**

**93 – Porção distal do *omeosternum* (Figura 18, apêndice I)**

- 0: Não Expandido
- 1: Expandido

**94 – Comprimento relativo da base do *omeosternum* em relação a sua expansão distal**

- 0: Comprimento de 0.3x a 0.6x a largura da expansão distal.
- 1: Comprimento de 0.8x a 1.2x a largura da expansão distal.

## **Coluna Vertebral**

### **95 – Orientação do processo transversal da vértebra pré-sacral II (Figura 19, apêndice I)**

- 0: Anteriormente inclinada.
- 1: Perpendicular ao eixo do corpo.

### **96 – Comprimento relativo do processo transversal da vértebra pré-sacral IV (modificado Duellman e Wiens, 1992) (Figura 19, apêndice I)**

Duellman e Wiens (1992) indicaram o processo transversal da pré-sacral IV alongado e orientado posteriormente como uma sinapomorfia para *Sphaenorhynchus*. Da Silva (1998, não publicado) observou que em *Sphaenorhynchus* os processos transversos da vértebra pré-sacral IV tinham formato de “L” e eram levemente arqueados posteriormente e mais longos que os processos das outras vértebras. As observações destes autores condizem com as minhas, exceto por *S. pauloalvini* que apresentou um estado intermediário entre os demais *Sphaenorhynchus* e duas espécies de *Scinax* (*S. catharinae* e *S. alter*). Notei que o formato de “L” da pré-sacral IV em *Sphaenorhynchus*, sugerido por Da Silva (1998, não publicado), foi consequência da extensão distal dos processos e de uma mudança brusca na direção nos processos, que se tornaram paralelos ao eixo axial do corpo. Decidi, então, codificar o comprimento, que parece ser mais coerente com as minhas observações. Um fato interessante foi que considerei como parte do comprimento, em *Sphaenorhynchus*, a porção cartilaginosa dos processos. Pois, constatei que esta porção estava ossificada em indivíduos adultos dentro da mesma espécie.

- 0: O extremo distal do processo transversal está ao nível da articulação da pré-zigapófise do processo transversal da pré-sacral V
- 1: O extremo distal do processo transversal está ao nível da margem anterior da base do processo transversal da pré-sacral V.
- 2: O extremo distal do processo transversal se alinha por detrás da margem posterior da base do processo transversal da pré-sacral V.

## **Caráter ordenado**

### **97 – Orientação do processo transversal da vértebra pré-sacral VI (Figura 19, apêndice I)**

- 0: Posteriormente inclinada.

1: Perpendicular ao eixo corporal.

#### **98 – Orientação do processo transversal da vértebra pré-sacral VII (Figura 19, apêndice I)**

As espécies, *Sphaenorhynchus orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii*, além de compartilharem o estado 98.1 para este caráter, apresentaram em comum a extremidade distal do processo transversal da pré-sacral VII fortemente curvada anteriormente. Obtendo um ângulo de 90° com o seu eixo perpendicular ao eixo axial do corpo. Característica que pode ser posteriormente codificada.

0: Anteriormente inclinada

1: Aproximadamente perpendicular ao eixo corporal

2: Posteriormente inclinada

#### **Caráter não ordenado**

#### **99 – Contato entre a pré-sacral II e III (Figura 19, apêndice I)**

Foi observado que em *Pseudis minuta*, dorsalmente, houve uma extensão do processo cartilaginoso na margem posterior da pré-sacral II que contacta a pré-sacral III.

0: Ausente

1: Contato entre a pré-sacral II e III mediante um processo cartilaginoso

#### **100 – Expansão da diapófise sacral (Duellman e Wiens, 1992) (Figura 20, apêndice I)**

Duellman e Wiens (1992) sugeriram que as diapófises sacrais estreitas seriam uma característica compartilhada por *Scinax*, *Scarthyla* e *Sphaenorhynchus*. Esta observação foi definida mais quantitativamente por Faivovich (2002) que, da mesma forma que Grant et al. (2006), determinou a expansão das diapófises segundo uma relação entre a largura da ponta da diapófise, que na verdade é a largura da cartilagem associada, e a largura da base da diapófise. Eu optei por usar a descrição dos estados proposta por Grant et al. (2006). Deixando claro que, ambos os autores definiram os estados deste caráter igualmente, mas o descreveram distintamente. Faivovich (2002) definiu dois estados, 21.0: “diapófises expandidas” (razão entre comprimento máximo/mínimo > 6) e; 21.1: “diapófises redondas” (razão entre comprimento máximo/mínimo < 3.5) (ver caráter 21, pág. 380). Eu considerei este último estado similar ao definido aqui como “diapófises moderadamente expandidas” (100.0). Nas espécies que compartilharam o estado 100.1 as diapófises foram de 3.5x a 5.69x mais largas na base do que na ponta. Frequentemente as diapófises possuem franjas irregulares de

cartilagem, as quais não foram incluídas nas medições. A variação não foi contínua e os estados foram separados por *gaps*.

*Sphaenorhynchus pauloalvini* e *S. carneus* compartilharam o mesmo estado que as espécies de *Dendropsophus* analisadas e *Xenohyla truncata*. Assim, a observação de Duellman e Wiens (1992) não se aplicou a todos *Sphaenorhynchus*.

0: Moderadamente expandida. Diapófises de 1.5x a 3x mais largas na ponta do que na base.

1: Bastante expandida. Diapófises são pelo menos 3.5x mais largas na ponta do que na base

## **Cintura Pélvica**

A cintura pélvica está localizada na região posterior ao tronco e articula com a vértebra sacral. Sendo composta por três pares de elementos: ílio, ísquio e púbis. Aqui somente foi codificado o formato dorsal que os ílios adquirem quando suas hastes anteriores que se articulam com a vértebra sacral divergem uma da outra ao longo do seu comprimento.

### **101 – Formato do arco ilíaco**

0: Formato de “U”

1: Formato de “V”

## **Mãos**

As mãos de *Sphaenorhynchus* consistiram de seis elementos carpais individuais: radial, ulnar, elemento y, carpal distal 3-4-5, carpal distal 2, elemento proximal do prepollex e prepollex, além dos metatarsais e falanges. Arranjados similarmente a figura 1C de Fabrezi (1992) para *Dendropsophus minutus* (usando *Hyla minuta*, pág. 4). De maneira geral, em *Sphaenorhynchus*, o carpal II ultrapassou a base do metacarpal II e além de articular com o elemento Y e o metacarpal II, articulou com o carpal 3-4-5, quase alcançando a margem lateral da extremidade proximal do metacarpal II, não articulando com o elemento proximal do prepollex. O elemento y fez contato proximal com o rádio e estava localizado entre o prepollex proximal e o carpal II.

### **102 – Número de elementos prepolicais distais (Figura 21 A-B, apêndice I)**

0: Somente um elemento prepolical distal

1: Dois elementos prepolicais distais

**103 – Formato do primeiro elemento prepolicar distal (Duellman e Wiens, 1992) (Figura 21 A-B, apêndice I)**

O prepollex ossificado e em formato de lâmina foram propostos por Duellman e Wiens (1992) como outra provável sinapomorfia para *Sphaenorhynchus*. De fato, todas as espécies analisadas deste gênero apresentavam o prepollex, aqui chamado de primeiro elemento prepolicar distal, em formato laminar. No entanto, este estado é também compartilhado por *Scarthyla goinorum*. A mineralização deste elemento variou intraespecificamente, com alguns indivíduos o apresentando cartilagenoso, parcialmente mineralizado ou completamente mineralizado. Por diferenças no número de elementos prepolicais distais, considereirei que o primeiro elemento distal de *Sphaenorhynchus* corresponde ao primeiro elemento distal de *Scinax*.

0: Laminar

1: Cilíndrico

2: Subcilíndrico

**Caráter não ordenado**

**104 – Axis longitudinal da última falange (Manzano et al., 2007) (Figura 21 C-D, apêndice I)**

As espécies de *Sphaenorhynchus* compartilharam com o grupo externo, exceto por *Pseudis minuta*, o axis longitudinal da última falange curvado. Além das espécies analisadas, Manzano et al. (2007) apontou que outras espécies de *Scinax* (*S. acuminatus*, *S. nasicus*, *S. squalirostris*.) e *Hypsiboas andinus* apresentaram este mesmo estado.

0: Curvado

1: Reto

**105 – Formato do elemento intercalar entre a última e penúltima falange (Manzano et al., 2007) (Figura 21 C-D, apêndice I)**

Segundo Manzano et al. (2007), existem três tipos morfológicos de elementos intercalares baseados em seu formato geral: (1) o elemento intercalar é longo e cilíndrico, com superfícies articulares planas: *Pseudis* em Hylidae; (2) o elemento intercalar é menor e poderia ser descrito como um disco com espessura variável, mas a altura é sempre menor que o raio, com ambas as superfícies articulares côncavas: a maioria dos Hyloides e; (3) o

elemento intercalar é cubóide ou prismático, em forma de cunha em vista lateral, com uma superfície articular proximal como um “cavaleiro sentado em uma sela” e uma superfície articular distal quase planar. A superfície articular proximal inclui um processo posterior bem desenvolvido. Neste trabalho foram observados somente os dois primeiros tipos morfológicos, sendo *Pseudis minuta*, a única espécie que apresentou as características referentes ao estado 105.0.

0: Longo e cilíndrico, com superfícies articulares planares

1: Como um disco, espesso e com superfícies articulares côncavas.

#### **106 – Mineralização do elemento intercalar entre a última e a penúltima falange (Duellman e Wiens, 1992)**

Duellman e Wiens (1992) sugeriram que o elemento intercalar totalmente mineralizado estaria presente em *Scarthyla goinorum*, *Aplastodiscus perviridis*, algumas espécies dos grupos *Scinax catharinae* e *Scinax staufferi* e em *Sphaenorhynchus carneus* e *S. planicola*. Eu encontrei, assim como Faivovich (2002) (ver caráter 22), que em alguns dedos da mão e também do pé, o elemento intercalar encontrava-se parcialmente mineralizado.

0: Não mineralizado

1: Parcialmente mineralizado

2: Completamente mineralizado

#### **Caráter ordenado**

#### **107 – Dilatação preaxial do metacarpal IV (Tyler e Davis, 1978) (Figura 22, apêndice I)**

Este processo localiza-se dorsolateralmente na porção medial preaxial do metacarpal IV, sendo a inserção do tendão do músculo *extensor digitorum ramus IV*.

0: Ausente

1: Presente

#### **Pés**

Em *Sphaenorhynchus* os pés foram constituídos de seis elementos tarsais: tibiale; fibulare; tarsal distal 2-3 localizado sob os metatarsais II e III; tarsal distal 1 que estava entre os metatarsais I e II; elemento y que se articulou com a tibiale e; o prehallux que se articulou com o metatarsal I e elemento y, além dos metatarsais e falanges. O número de elementos distais ao prehallux variou entre as espécies.

### **108 – Contato da porção basal do metatarsal IV e V**

Da Silva (1998, não publicado) aceitou dois estados para este caráter: as porções basais dos metatarsais IV e V livres ou fusionadas. Eu observei, em acordo com este autor, que estas porções se apresentaram livres. Mas, não é seguro afirmar que os ossos estavam fusionados, e sim que houve um contato muito estreito que não permite o movimento. Análises histológicas são necessárias para confirmar a fusão dos ossos. Desta forma, codifiquei como segue.

0: Livres

1: Em contato íntimo

### **109 – Número de elementos distais ao prehallux**

0: um

1: dois

2: três

3: quatro

4: cinco

### **Caráter ordenado**

### **110 – Dilatação preaxial do metatarsal I**

Foi observada uma dilatação preaxial do metatarsal I que se localizou dorsolateralmente no terço distal do metatarsal I, muito próxima a extremidade proximal.

0: Ausente

1: Presente

### **111 – Tipo Estrutural do saco vocal**

De maneira geral, em hilídeos, principalmente nas espécies de lagoas e brejos, o saco vocal é único, mediano e subgular (Duellman, 1970; Duellman e Trueb, 1986). Em *Sphaenorhynchus* o saco vocal é único e subgular e exceto por *S. pauloalvini* e *S. prasinus* que possuem o saco vocal menos desenvolvido, ele se estendeu à região anterior do peito ou mais posteriormente, entrando na região dos braços nas espécies *S. planicola* e *S. mirim*. Outra característica observada foi a presença de pregas longitudinais no saco vocal de *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. pauloalvini* e *S. prasinus*. Em *S. dorisae* estavam presentes, mas menos marcadas. A presença destas pregas aparentou ser artefato de fixação. Pois, foi observado que quando vivos alguns exemplares não as apresentavam. Além de que, quando foram feitos cortes na pele não havia tecido conectivo ou outro elemento que caracterizasse ou originasse as pregas. Todavia, a presença das pregas pode refletir em certo grau o desenvolvimento do saco vocal na região correspondente ao saco linfático peitoral, necessariamente o desenvolvimento do músculo *interhyoideus*. Além que, nos *Sphaenorhynchus* que apresentaram este músculo bastante desenvolvido a pele que está associada a ele também se apresentou desenvolvida. Supostamente, como consequência, quando o animal é fixado ocorre o dobramento da pele.

0: Mediano, subgular

1: Lateral, pareado

### **112 – Linha escura lateral (Figura 23, apêndice I)**

A linha escura lateral quando estava presente se estendia até o olho, iniciando na ponta do focinho (*S. prasinus*, *S. lacteus*, *S. carneus*) ou ultrapassava o olho se estendendo até o meio dos flancos ou até a região inguinal (*S. surdus*, *S. botocudo*, *S. caramaschii*, *S. palustris*, *S. orophilus*, *S. bromelicola*, *S. pauloalvini*) neste último estado a extensão foi considerada como uma variação intrapopulacional. Em *S. mirim* a linha estava ausente. A espécie *S. planicola* apresentou-se polimórfica para os estados 112.0, 112.1 e 112.2 e *S. carneus* para os estados 112.0 e 112.1. Rodriguez e Duellman (1994) na prancha 7 figura H, apontaram que *S. carneus* tinha uma linha “dorsolateral avermelhada” que se estendia, aparentemente, até a região inguinal. Entretanto, eu observei em *S. carneus* somente uma linha lateral escura que se estendia até o olho ou somente pontos pigmentados escuros ao redor das narinas. O que não

caracteriza, neste último caso, a presença da linha. Eu poderia ter separado este caráter em dois: linha cantal e linha dorsolateral. Mas, descrevi somente como um, por ter observado uma continuidade da linha escura, ou seja, quando presente dorsolateralmente, também estava presente na região cantal.

0: Ausente

1: Até o olho.

2: Ultrapassa o olho, podendo se estender até o meio dos flancos ou até a região inguinal.

### **Caráter ordenado**

#### **113 – Linha branca lateral**

Para *Sphaenorhynchus* a linha branca lateral estava presente somente em *S. pauloalvini*. Nos indivíduos observados desta espécie a linha branca iniciava na ponta do focinho ou um pouco após a ponta do focinho e sua extensão posterior alcançava o meio dos flancos ou a região inguinal. Outra variação conhecida foi descrita por Bokermann (1973), onde a linha branca começava em baixo do olho. A única espécie que compartilhou com *S. pauloalvini* este estado foi *Scarthyla goinorum*.

0: Ausente

1: Presente

#### **114 – Linha branca cantal (Figura 23, apêndice I)**

Em *Sphaenorhynchus* a linha branca cantal, assim como a linha branca dorsolateral, era margeada inferiormente pela linha escura lateral em toda sua extensão, exceto para *Sphaenorhynchus planicola*. Caramaschi et al. (2009) relataram que em *S. mirim* e *S. botocudo* não havia linha branca cantal. Mas, ao analisar a figura 3 deste artigo (pag. 38, parátipo MNRJ 50640), a linha branca pareceu estar presente nesta última espécie. Em mais cinco espécies (*S. surdus*, *S. caramaschii*, *S. orophilus*, *S. palustris* e *S. bromelicola*) foi observado que a linha branca cantal poderia estar presente ou não, sendo polimórficas para este caráter. As células de pigmento que estão envolvidas na coloração branca são chamadas de iridóforos. A maioria das espécies retém a pigmentação depois de muitos anos em preservação, mas extensos períodos de luz ou a fixação por longos períodos, às vezes, pode afetar a presença e a extensão destas células. O que pode acarretar erros de codificação. Desta forma, é aconselhável sempre que possível, observar este caráter em espécimes recém fixados ou que não tenham passado por longos períodos de fixação.

0: Ausente

1: Presente

### **115 – Linha branca dorsolateral (Figura 23, apêndice I)**

A linha branca dorsolateral iniciava no canto posterior do olho podendo se estender até a região inguinal. Sua extensão variou intrapopulacionalmente, terminando um pouco depois do tímpano, alcançando o meio dos flancos ou a região inguinal. Em *Sphaenorhynchus mirim* estava ausente e presente em *S. botocudo* (Caramaschi et al., 2009).

0: Ausente

1: Presente

### **116 – Mancha branca longitudinal subocular (Figura 24, apêndice I)**

Segundo Caramaschi et al. (2009) a mancha branca longitudinal subocular seria uma autapomorfia dentro de *Sphaenorhynchus*, presente somente em *S. botocudo*. No entanto, é evidente que não se trata de uma autapomorfia, pois a série de espécimes que foram vistos demonstrou que o caráter é polimórfico em todas as espécies em que muitos exemplares foram analisados, variando inter e intrapopulacionalmente. O único motivo de ter usado como caráter é que ele é fixo em *S. botocudo*, mas a sua série precisa ser revisada.

0: Ausente

1: Presente

### **117 – Membrana timpânica (Figura 25, apêndice I)**

Segundo Lynch e Duellman (1997), o tímpano é uma combinação de (1) membrana timpânica diferenciada e (2) *annulus* timpânico. Wever (1985) definiu membrana timpânica como “... uma área de pele modificada, muito mais fina do que a pele normal e que falta camadas subcutâneas... e suas margens são anexadas ao aro vistoso de uma cartilagem em formado de funil, o *annulus* timpânico...”. A membrana timpânica usualmente também tem uma textura mais suave, comumente tem uma coloração distinta, e em muitos casos é de levemente a obviamente translúcida devido à cavidade timpânica subjacente (Wever, 1985).

Ainda segundo Wever (1985), o tímpano *concealed* (escondido ou oculto, em português) é definido como uma membrana timpânica ausente, mas com o *annulus* timpânico presente.

Para codificar este caráter, além de observações externas foram realizados cortes de pele, constatando-se que todas as espécies possuíam *annulus* timpânico. Porém, dentro de *Sphaenorhynchus* (incluindo *S. mirim* e *S. botocudo*) a membrana timpânica, como uma pele diferenciada, estava presente somente em *S. pauloalvini* e *S. lacteus*.

0: Ausente (tímpano oculto/escondido)

1: Presente

### **118 – Natureza do *pad* nupcial do segundo dedo da mão**

Os termos “pad” nupcial e excrescência nupcial têm sido usados como sinônimos por muitos autores (e.g., Peters 1964; Lynch e Ruiz-Carranza 1996). No entanto, alguns autores determinaram estas estruturas separadamente como Lynch e Duellman (1997) que definiram os “pads nupciais” como estruturas brancas e não espinhosas que estão presentes sobre as superfícies medial e dorsomedial da base do polegar em machos reprodutivos. Cisneros-Heredia e McDiarmid (2007) usaram o termo excrescência nupcial para se referir à área total (espinhosa/cornificada, áspera ou granular formada por glândulas em diferentes arranjos morfológicos, as quais estão associadas ao ciclo reprodutivo. Sendo o termo “pad” nupcial definido como uma região grossa branca ou creme, áspera ou granular, formada por glândulas não discerníveis individualmente. Já Duellman (2001), definiu excrescência nupcial como uma área queratinizada ou um “pad” cornificado sobre a superfície interna do prepólex (também sobre outros dígitos em algumas espécies) em machos reprodutivos. Eu defini “pad” nupcial como uma área modificada, um pouco mais espessa que as áreas adjacentes que geralmente está presente no segundo dedo (também sobre outros dígitos) associada ao ciclo reprodutivo em machos. Esta região pode ser formada somente por glândulas/ácinos (com diferentes arranjos morfológicos) que podem estar queratinizados ou não (somente um corte histológico pode dizer se está queratinizado); ou ser formada por ácinos e adicionalmente possuir um relevo de espinhos queratinizados, que podem estar pigmentados ou não e, assim ser chamada de excrescência nupcial. Em todas as espécies de *Sphaenorhynchus*, inclusive em *S. mirim* e *S. botocudo*, houve a presença de excrescências nupciais queratinizadas. No entanto, posso afirmar que estavam despigmentadas somente em *S. dorisae* e *S. lacteus*, espécies que tive a oportunidade de revisar enquanto recém coletadas, já que a pigmentação escura facilmente é perdida com a fixação ou com o manejo dos espécimes. Da mesma forma, para os grupos externos foi verificado a presença de excrescência nupciais queratinizadas não

pigmentadas para *Xenohyla truncata*, *Scarthyla goinorum*, *Pseudis minuta*, *Dendropsophus elegans*, *D. microps*, *Scinax catharinae* e *S. alter*.

0: Pad nupcial formado por ácinos somente.

1: Pad nupcial com espinhos queratinizados pigmentados ou não (Excrescência nupcial).

### **119 – Tamanho dos espinhos queratinizados (Figura 27, apêndice I)**

Outra característica observada foi o tamanho dos espinhos queratinizados. Pela dificuldade em medir o tamanho real dos espinhos, eu utilizei fotos retiradas na mesma escala, nas quais foi delimitado um quadrado de 0.01 mm<sup>2</sup> e contados os espinhos dentro do quadrado de cada foto. Supostamente, *S. mirim* e *S. botocudo* apresentam o estado 119.0.

0: Excrescência nupcial com 10 a 12 espinhos queratinizados por quadrante.

1: Excrescência nupcial com 5 a 7 espinhos queratinizados por quadrante.

### **120 – Ornamentação subcloacal (Figura 26, apêndice I)**

Na maioria dos pequenos sapos que se reproduzem em lagos, a abertura cloacal está dirigida posteriormente ao nível superior das coxas e é coberta por um curto e largo *flap* cloacal (Duellman, 2001). Esta estrutura cobre a cloaca no sentido de que forma uma estante em cima, mas não cobre no sentido de dar forma ao orifício cloacal, como observados em espécies do gênero *Aplastodiscus*. No caso de *Sphaenorhynchus*, o *flap* cloacal é uma prega dérmica que está por baixo da cloaca, como já conhecido para espécies da família Centronelidae.

Hipoteticamente, o acúmulo de tubérculos subcloacais pode dar origem a estruturas definidas, aproximadamente triangulares, de cada lado da região subcloacal, que pode ser definidas como os “verdadeiros” *flaps* cloacais, que estavam presentes, neste formato, somente em *Sphaenorhynchus dorisae*. No entanto, muito pouco da função biológica destas pregas e da histologia é conhecido, não estando claro se estas estruturas são glândulas associadas à reprodução. A pregas dérmicas foram observadas, além de *S. dorisae*, em *S. prasinus*, *S. lacteus* e *S. planicola* e aparentemente em *S. mirim* (Caramaschi et al., 2009). *S. botocudo* provavelmente apresenta o estado 120.3 (Caramaschi et al., 2009).

0: Sem tubérculos na região subcloacal.

1: Tubérculos pequenos iguais aos da pele ao redor.

2: Dois tubérculos pareados de tamanho maior que os da pele ao redor.

- 3: Série de tubérculos grandes que estão coalescidos formando uma prega incipiente.
- 4: Prega dérmica (*flap*) com margens arredondadas.
- 5: Prega dérmica (*flap*) com margens laterais mais agudas que adquirem um formato triangular.

### **Caráter não ordenado**

#### **121 – Lâmina cloacal**

Em alguns hilídeos que se reproduzem em lagos e em muitos que se reproduzem em rios, a abertura cloacal é dirigida posteroventralmente ao nível médio das coxas e coberta por uma moderadamente longa lâmina cloacal (Duellman, 2001). Em *Sphaenorhynchus* esta lâmina foi observada somente para *S. pauloalvini*, estado compartilhado, talvez, por algumas espécies de *Dendropsophus*.

0: Ausente

1: Presente

#### **122 – Ornamentação dérmica do antebraço**

Vários elementos podem fazer parte da ornamentação do antebraço, algumas estruturas como: tubérculos, pregas (dobras dérmicas), franjas (dobras dérmicas mais livres), quilhas (dobras dérmicas mais rígidas e menos livres). Pregas dérmicas presentes na margem lateral do antebraço estão presentes na maioria das espécies da tribo Cophomantini e em alguns gêneros da família Phyllomedusinae. Em *Sphaenorhynchus* foram observados no antebraço desde tubérculos individuais (e.g. *S. pauloalvini*) até pregas dérmicas crenuladas (e.g., *S. palustris* e *S. botocudo* Caramaschi et al., 2009) ou quase retas que ultrapassavam a articulação braço-antebraço, formando um apêndice (e.g., *S. dorisae*, *S. planicola*, *S. prasinus* e *S. mirim* Caramaschi et al., 2009) ou quase retas que somente alcançavam a articulação braço-antebraço (*S. lacteus*). Nas pregas crenuladas era como se os tubérculos fossem unidos em sua base, já as pregas quase retas apresentam uma leve crenulação, eram um pouco mais desenvolvidas e contínuas. Geralmente os tubérculos e pregas estavam pigmentados de branco em suas margens, essa coloração facilmente é perdida com a preservação. Outra observação pertinente é que em *Pseudis minuta* os “tubérculos” pareciam possuir um formato diferente das outras espécies, de forma que se seguir o que Cisneros-Heredia e McDiarmid (2007) definiram para espículas (estruturas elevadas, cônicas, pontudas e mais altas que largas) e tubérculos (estruturas elevadas, mais altas que largas e redondas); *Pseudis minuta* se encaixaria na definição de espículas.

- 0: Ausente
- 1: Fileira de tubérculos ou espículas individualizados
- 2: Prega crenulada
- 3: Prega quase reta, muito bem definida que somente alcança a articulação umeral
- 4: Prega quase reta, muito bem definida que ultrapassa a articulação braço e antebraço

#### **Caráter não ordenado**

#### **123 – Ornamentação dérmica no tarso**

As mesmas observações feitas para as pregas crenuladas e quase retas do antebraço, em *Sphaenorhynchus*, podem ser utilizadas para as mesmas estruturas do tarso. Assim como, as observações para a coloração e *Pseudis minuta*. De modo aparente, *S. mirim* apresenta o estado 123.3 e *S. botocudo* o estado 123.2 (Caramaschi et al., 2009).

- 0: Ausente
- 1: Fileira de tubérculos ou espículas individualizados
- 2: Prega crenulada
- 3: Prega quase reta

#### **Caráter não ordenado**

#### **124 – Ornamentação dérmica na articulação tíbia-tarso**

Nesta região, onde a tíbia e os elementos proximais do tarso se articulam foram observados somente tubérculos/espículas e projeções cutâneas (apêndices calcâneos). *Sphaenorhynchus mirim* e *S. botocudo* apresentavam os estados 124.2 e 124.1 (Caramaschi et al., 2009), respectivamente. Da mesma forma que para o antebraço e tarso, as observações feitas para a coloração e para *Pseudis minuta* podem ser levadas em consideração.

- 0: Ausente
- 1: Tubérculos ou espículas somente
- 2: Apêndice calcâneo reto
- 3: Apêndice calcâneo triangular

#### **Caráter não ordenado**

#### **125 – Prega supratimpânica**

- 0: Prega supratimpânica fraca que margeia superiormente o anel timpânico e se estende muito pouco posteriormente.

- 1: Prega supratimpânica forte e bem marcada que margeia superiormente o anel timpânico e se estende posteriormente até a articulação do braço com o corpo.

#### **126 – Formato do disco adesivo da mão (Figura 28, apêndice I)**

Duellman e Wiens (1992) sugeriram como sinapomorfia para *Scinax* os discos adesivos das mãos dilatados com formato truncado/mais largos que longos. Faivovich (2002) utilizou este caráter e constatou que em todas as espécies de *Scinax*, por ele analisadas, apresentavam o disco adesivo truncado. Eu considerei mais um estado para este caráter: subtruncado (126.2). Pois, de certo modo, me pareceu diferente do que já foi mencionado para *Scinax*.

- 0: Redondo
- 1: Truncado
- 2: Subtruncado

#### **Caráter não ordenado**

#### **127-133 Membrana das Mãos (Grant et al., 2006)**

Para codificar estes caracteres eu segui as recomendações de Grant et al. (2006), que trataram as membranas de cada margem de cada dígito do pé como caracteres independentes em dendrobatídeos. Pois, havia uma ampla evidência de que a extensão da membrana ao longo de cada margem de cada dígito variava independentemente. Argumentando ainda que, embora as membranas possam formar uma única unidade integrada funcional (assim como um organismo inteiro), a independência funcional é mais secundária à independência histórica (Grant and Kluge, 2004). Ainda seguindo Grant et al. (2006), as franjas dos dedos foram consideradas homólogas as membranas e as franjas laterais que se encontravam entre os dedos não foram consideradas como membranas a menos que elas estivessem expandidas em relação as franjas laterais, ou seja, se as franjas laterais contínuas são mais largas na base do que ao longos das margens dos dígitos, foram consideradas como uma membrana. A codificação segue a nomenclatura proposta por Savage e Heyer (1967) e subsequentemente modificada por Myers e Duellman (1982), a qual quantifica a extensão das membranas em termos de números de falanges livres.

#### **127 – Membrana: Mão II pré-axial**

- 0: Ausente
- 1: Fímbrias

#### **128 – Membrana: Mão II pós-axial**

0:Ausente

1:Franja

2: 3 e 1/2

3: 2

**129 – Membrana: Mão III pré-axial**

0:Ausente

1:Franja

2: 3 e 1/2

3:2 e 1/2

4: 2

**130 – Membrana: Mão III pós-axial**

0:Ausente

1:Franja

2: 3 e 1/2

3: 2

4: 1 e 1/2

5: 1

**131 – Membrana: Mão IV pré-axial**

0:Ausente

1:Franja

2: 3 e 1/2

3: 3

4: 2 e 1/2

5: 2

**132 – Membrana: Mão IV pós-axial**

0:Ausente

1:Franja

2: 3

3: 2 e 1/2

4: 2

5: 1 e 1/2

**133 – Membrana: Mão V pré-axial**

0:Ausente

- 1: Franja
- 2: 2 e ½
- 3: 2
- 4: 1 e 1/2

Morfologia externa de larvas

#### **134 – Posição dos orifícios nasais em relação ao eixo axial corporal em vista dorsal**

Nos *Sphaenorhynchus* que compartilharam o estado 134.0, lateralmente os orifícios nasais apresentaram o seu eixo maior levemente inclinado anteriormente em relação ao eixo corporal.

- 0: Orifícios nasais com seu eixo maior perpendicular ao eixo axial.
- 1: Orifícios nasais com seu eixo maior paralelo ao eixo axial

#### **135 – Formato das margens internas dos orifícios nasais (Faivovich et al. 2005)**

Em algumas espécies de *Sphaenorhynchus* foi observado que há dois rebordes cutâneos sobressalentes, dispostos sobre cada margem ao longo do eixo maior de cada orifício nasal. Cruz (1973) foi quem primeiro noticiou a presença desta estrutura na descrição das larvas de *S. planicola*, a qual designou como “válvula nasal”.

- 0: Orifício nasal subcircular normal.
- 1: Orifício nasal em formato de válvula.

#### **136 – Posição do disco oral (Faivovich, 2002)**

Seguindo a codificação proposta por Faivovich (2002), os termos terminal, subterminal e ventral foram usados para definir a posição do disco oral em relação a uma linha imaginária que separa o disco oral do corpo. Então, se a linha foi perpendicular ao eixo principal do corpo, o disco oral é terminal, se a linha formou um ângulo agudo com o eixo principal do corpo, o disco oral é subterminal, se a linha foi aproximadamente paralela ao eixo principal do corpo, o disco oral é ventral.

- 0: Ventral
- 1: Subterminal
- 2: Terminal

**Caráter ordenado**

**137 – Papilas submarginais do disco oral das larvas**

0: Ausente

1: Presente

**138 – *Gap* mediano na papila marginal do lábio inferior do disco oral**

Cruz (1973) foi quem primeiro observou em *Sphaenorhynchus planicola* a presença de um *gap* na papila marginal do lábio inferior. Posteriormente, Suárez-Mayorga e Lynch (2001) constataram que havia uma interrupção medial das papilas no lábio inferior de *S. dorisae*, similar ao "brazo labial" de *Scarthyla goinorum* que Duellman e Wiens (1992) sugeriram como apomorfia. Tal estrutura é encontrada em algumas espécies do grupo *Scinax rostrata*. Há forte suspeita de que estas estruturas não são homólogas (ver Faivovich et al., 2005; Suárez-Mayorga e Lynch, 2001). No entanto, ressalto que estou codificando a presença ou não do *gap* mediano, e não a estrutura *per se*. Estudos posteriores são necessários para comprovar a homologia deste elemento.

0: Ausente

1: Presente

**139 – Fileiras anteriores de keratodontes**

0: Ausente

1: Presente

**140 – Número de fileiras anteriores de keratodontes**

0: Uma fileira de keratodontes

1: Duas fileiras de keratodontes

**141 – Fileiras posteriores de keratodontes**

0: Ausente

1: Presente

**142 – Número de fileiras posteriores de keratodontes**

Suárez-Mayorga e Lynch (2001) observaram que em *Sphaenorhynchus carneus* a fileira P3 não se encontra queratinizada na maioria dos indivíduos e em 28% dos 73 indivíduos analisados estava ausente, indiferentemente do estágio em que se encontravam. Considerei, então, que esta espécie é polimórfica para este caráter.

- 0: Uma fileira de keratodontes
- 1: Duas fileiras de keratodontes
- 2: Três fileiras de keratodontes
- 3: Quatro fileiras de keratodontes

#### **Caráter ordenado**

#### **143 – Interrompimento da fileira P1 de keratodontes**

- 0: Ausente
- 1: Presente

#### **144 – Relação do espiráculo e a parede corporal**

Em *Sphaenorhynchus orophilus* o espiráculo era comprido e desprendido do corpo, mas proporcionalmente mais curto que em *S. bromelicola* que, por sua vez, o apresentou mais curto do que o observado para *S. palustris* (ver Nunes et al., 2007 pag. 125 figura 1). Há a necessidade de medir o comprimento do espiráculo e compará-lo com outra medida (e.g., o comprimento do corpo) para definir melhor este caráter. No entanto, acredito que os estados abaixo captam bem os extremos da variação. O estado 144.2 é o mesmo definido por Faivovich (2002) (ver estado 0 do caráter 77 pag. 386) para as espécies de *Scinax* incluídas em suas análises.

- 0: Espiráculo livre da parede do corpo.
- 1: Espiráculo com uma curta porção distal da parede interna livre da parede do corpo.
- 2: Espiráculo com a porção médio-distal da parede interna fusionada a parede do corpo.

#### **Caráter não ordenado**

#### **145 – Pigmentação escura ventral do tubo proctodeal**

- 0: Ausente
- 1: Presente

#### **146 – Direção da abertura do tubo proctodeal**

- 0: Medial
- 1: Destral
- 2: Diagonal

#### **Caráter não ordenado**

**147 – Relacionamento entre o músculo *intermandibulares* e o músculo *submentalis* (Tyler, 1971)**

Em machos e fêmeas de anuros três separados, ventrais e superficiais músculos estão situados entre as mandíbulas: m. *submentalis*, m. *intermandibularis* e m. *interhyoideus* (Tyler, 1971). Tyler (1971) foi quem observou primeiramente a variação no relacionamento morfológico entre o *submentalis* e *intermandibularis*. Da Silva (1998, não publicado) utilizou este caráter para apoiar suas hipóteses filogenéticas. Nas minhas observações verifiquei uma variação diferente da proposta por Da Silva (1998, não publicado). Em *Sphaenorhynchus*, assim como proposto por Tyler (1971), a presença do elemento apical no *intermandibularis* com suas fibras principalmente transversais faz com que a maioria das fibras anteriores do m. *intermandibularis* sobreponha o m. *submentalis*, escondendo sua margem posterior. Característica independente da presença do elemento apical, pois *Xenohyla truncata* não o apresentou, mas compartilhou com *Sphaenorhynchus* o m. *intermandibularis* sobrepondo toda a margem posterior do m. *submentalis* (147.0).

- 0: Sobrepondo toda a margem posterior do músculo *submentalis*.
- 1: Sobrepondo a porção posterolateral do músculo *submentalis*.
- 2: Adjacente medialmente a margem posterior do músculo *submentalis*.
- 3: Sobrepondo medialmente a margem posterior do músculo *submentalis*.

**Caráter não ordenado**

**148 – Porção medial do músculo *intermandibularis* (Tyler, 1971) (Figura 29, Apêndice I)**

Tyler (1971) observou que as fibras das duas porções do *intermandibularis* ou se encontravam no meio formando uma rafe estreita ou elas eram separadas por uma aponeurose mediana e que a aponeurose variava no formato. Em *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. pauloalvini* e *S. carneus*, eu observei a presença de uma pequena aponeurose medial localizada no ponto de encontro das fibras do elemento suplementar apical seguida por uma rafe que se estendia até o final do m. *intermandibularis* (estado 148.2) (Figura 29, apêndice I).

- 0: Com a presença de rafe.
- 1: Com a presença de aponeurose.
- 2: Com a presença de uma pequena aponeurose apical e rafe.

### **Caráter não ordenado**

#### **149 – Elemento suplementar apical do músculo *intermandibularis* (Tyler, 1971) (Figura 29, Apêndice I)**

O m. *intermandibularis* é diferenciado por um perfeitamente desenvolvido, mas extremamente pequeno elemento apical com fibras principalmente transversas (Tyler, 1971). Todas as espécies de *Sphaenorhynchus* apresentaram o *intermandibularis* com a sua porção anterior diferenciada em um elemento apical. No entanto, dos três exemplares de *S. carneus* analisados, em dois eu não consegui diferenciar este elemento. Sendo, portanto, polimórfico para este caráter. Todas as espécies do grupo externo não apresentaram o elemento suplementar apical.

0: Ausente

1: Presente

#### **150 – Porção medial do músculo *interhyoideus* (Tyler, 1971)**

O m. *interhyoideus*, assim como o m. *intermandibularis*, pode possuir medialmente uma rafe, uma aponeurose ou ser aráfico (Tyler, 1971). Eu somente observei os dois estados abaixo.

0: Aráfico

1: Rafe medial

#### **151 – Grau relativo de desenvolvimento anterior músculo *interhyoideus***

Da Silva (1998, não publicado) codificou o formato do m. *interhyoideus*, descrevendo os estados de acordo com seu desenvolvimento posterior e anterior, além do formato posterior. Discordando do autor, acredito que se trata de pelo menos três caracteres independentes, dos quais eu codifiquei dois, que estão relacionados ao desenvolvimento anterior e posterior do *interhyoideus* (caracteres 151 e 152, respectivamente). O terceiro caráter poderia ser o formato posterior deste músculo, com *Pseudis minuta* o apresentando com formato bilobular (ver Tyler, 1971 fig. 5e pag. 328). O grau relativo de desenvolvimento anterior do m. *interhyoideus* foi codificado utilizando como referência o maior comprimento do arco mandibular.

0: Pouco desenvolvido. Ocupa cerca 1/5 do comprimento da mandíbula, alcançando aproximadamente a borda anterior do anel timpânico.

- 1: Desenvolvido. Ocupa cerca de 1/3 do comprimento da mandíbula, alcançando aproximadamente a borda posterior do olho.
- 2: Bem desenvolvido. Ocupa cerca de 1/2 do comprimento da mandíbula, alcançando aproximadamente a metade do olho.

#### **Caráter ordenado**

#### **152 – Extensão posterior da prega do músculo *interhyoideus***

Tyler (1971) observou que em *Sphaenorhynchus* o m. *interhyoideus* é excepcionalmente bem desenvolvido posteriormente e estende-se consideravelmente além das extremidades pós-articulares da mandíbula. Eu defini este caráter com base em exemplares com o saco vocal distendido e bem fixado.

- 0: Ultrapassa levemente a mandíbula
- 1: Ultrapassa a mandíbula alcançando entre 1/3 e 1/2 do músculo *deltoideus*
- 2: Ultrapassa a mandíbula e alcança a porção posterior do músculo *deltoideus*
- 3: Alcança a borda anterior do músculo *pectoralis esternalis*
- 4: Alcança a margem posterior do músculo *pectoralis esternalis*
- 5 Ultrapassa o músculo *pectoralis esternalis*

#### **Caráter ordenado**

#### **153 – Inserções do músculo *geniohyoideus lateralis***

Dorsalmente ao m. *intermandibularis* encontra-se o músculo *geniohyoideus* que consiste de duas partes: m. *geniohyoideus medialis*, próximo a linha medial e o m. *geniohyoideus lateralis*, mais lateral. Estes músculos separam a musculatura superficial da musculatura da língua. A musculatura da língua encontra-se dorsalmente ao assoalho bucal e é formada pelos músculos *genioglossus* e *hyoglossus*. Além da musculatura da língua, a placa hióide é local de inserção dos músculos *sternohyoideus*, *petrohyoideus* e *omohyoideus*.

O m. *geniohyoideus lateralis* pode ser único e estar inserido somente no processo posterolateral do hióide ou se dividir em dois posteriormente, com uma parte mais externa que se insere no processo posterolateral do hióide e outra parte mais interna que se insere no final do processo posteromedial do hióide sobre sua margem ventral.

- 0: Músculo *geniohyoideus lateralis* com um único ponto de inserção.
- 1: Músculo *geniohyoideus lateralis* com dois pontos de inserção,

#### **154 – Pars dorsalis do músculo *sternohyoideus***

O m. *sternohyoideus* origina-se na região ventral do *sternum* e pode ser formado por duas partes: uma parte ventral inserida mais anteriormente na placa hióide e o *pars dorsalis* que cruza o resto do músculo obliquamente, sendo a parte inserida mais posteriormente na placa hióide e/ou membrana *thyroide* e/ou processo posteromedial do hióide. A membrana *thyroide* abrange o espaço entre o processo posterolateral e processo posteromedial do hióide.

0: Ausente

1: Presente

#### **155 – Inserções do *pars dorsalis* do músculo *sternohyoideus***

0: *Pars dorsalis* do músculo *sternohyoideus* inserido somente na placa hióide

1: *Pars dorsalis* do músculo *sternohyoideus* inserido na placa hióide e na membrana *thyroide*

2: *Pars dorsalis* do músculo *sternohyoideus* inserido na margem do processo posteromedial do hióide, aproximadamente na metade de seu comprimento

#### **Caráter não ordenado**

#### **156 – Relação do músculo *hyoglossus* e o processo posteromedial do hióide**

O m. *hyoglossus* origina-se como duas metades na superfície ventral do processo posteromedial do hióide, estas metades se juntam por baixo da placa hióide e o músculo único segue em direção a língua. Além de variar em relação ao ponto de origem, foi observado que quando as duas metades se unem e seguem em direção a língua, um feixe de fibras pode se separar do músculo principal e se inserir ventralmente no hiale, em um ponto localizado posteriormente ao processo alar (ver caráter 157).

0: Subterminal. Músculo *hyoglossus* se originando no início do 1/3 posterior do processo posteromedial

1: Terminal. Músculo *hyoglossus* se originando na extremidade posterior final do processo posteromedial

#### **157 – Feixe de fibras do *hyoglossus***

0: Ausente. Músculo único segue em direção a língua.

1: Presente. Feixe de fibras que se insere no hiale posteriormente ao processo alar do hióide.

#### **158 – Músculo *petrohyoideus anterior***

O m. *petrohyoideus anterior* origina-se sobre a região ótica do crânio, mais precisamente sobre os proóticos e está inserido sobre a margem lateral da placa hióide. Em

*Sphaenorhynchus*, exceto por *S. pauloalvini*, além de estar inserido na margem lateral, possuía uma camada de fibras que cobre a região medial da placa hióide.

0: Inserido na margem lateral da placa hióide, subjacente ao processo alar do hióide

1: Com uma camada de fibras sobre a placa hióide

#### **159 – Inserção do ramo I do músculo *petrohyoideus posterior***

O m. *petrohyoideus posterior* possui três ramos que surgem do crânio em um ponto adjacente ao m. *petrohyoideus anterior*. Os dois primeiros estão inseridos na margem lateral da porção óssea do processo posteromedial do hióide, enquanto que o último está inserido sobre a epífise cartilaginosa e/ou sobre uma parte do anel cricóide.

0: Inserido na base do processo posteromedial do hióide

1: Inserido aproximadamente na metade do comprimento do processo posteromedial do hióide

#### **160 – Ramo II do músculo *petrohyoideus posterior***

0: Ausente

1: Presente

#### **161 – Inserção do ramo III do músculo *petrohyoideus posterior***

0: Uma única inserção no processo posteromedial do hióide

1: Duas inserções, no processo posteromedial do hióide e no anel cricóide

#### **162 – Inserções do ramo medial do músculo *extensor digitorum communis longus* (Faivovich, 2002) (Figura 30 A, apêndice I)**

O m. *extensor digitorum communis longus* (EDCL) origina-se na margem distal do úmero e se estende sobre o rádio-ulna até o dorso da mão, onde se divide em três ramos que se inserem sobre os metacarpais III, IV e V, respectivamente. Faivovich (2002) constatou que o ramo que se insere sobre o metacarpal IV pode ser único ou dividido em sua ponta em dois “slips” que se inserem separadamente nas espécies de *Scinax*. Eu observei que em *Sphaenorhynchus palustris* o ramo medial do EDCL estava dividido em dois “slips”, estado compartilhado por *Scinax catharinae*.

0: Ramo medial do EDCL com um único ponto de inserção

1: Ramo medial do EDCL com dois pontos de inserção

#### **163 – Inserções do ramo pós-axial do músculo *extensor digitorum communis longus* (Figura 30 B, apêndice I)**

Além do ramo medial, foi verificado que o ramo que se insere sobre o metacarpal V (ramo pós-axial) também pode ser único ou dividido em dois “slips”. Mas, ao contrário do ramo medial, o qual está dividido em sua ponta, o ramo pós-axial quando está dividido apresentou os dois “slips” longos e divididos desde a região dorsal da mão.

0: Ramo pós-axial do EDCL com um único ponto de inserção

1: Ramo pós-axial do EDCL com dois pontos de inserção

Anatomia interna de adultos

#### **164 – Peritônio parietal branco (Figura 32, apêndice I)**

O peritônio é uma membrana serosa, na maioria das vezes transparente, que cobre as paredes abdominais (peritônio parietal) ou as vísceras (peritônio visceral). Uma substância semi-sólida branca cobre o peritônio parietal de todas as espécies de *Sphaenorhynchus*. As células de pigmento que estão envolvidas nesta coloração são chamadas iridóforos (sinônimo: guanóforos). Seguindo as recomendações de Cisneros-Heredia e Mcdiarmid (2007) para observar este caráter foram feitas disseções ventrais para determinar o estado do peritônio, pois o simples exame externo não é adequado e é fortemente desencorajado devido às dificuldades de diferenciar a presença e a extensão dos iridóforos, e também porque a pele ventral pode impedir a observação acurada deste caráter.

0: Iridóforos ausentes, peritônio transparente.

1: Iridóforos presentes, peritônio branco.

História natural

### **165 – Pedomorfose (Figura 31, apêndice I)**

A pedomorfose foi registrada para *Sphaenorhynchus* primeiramente por Bokermann (1974) para *S. bromelicola*, onde foram observados machos adultos e girinos em metamorfose vocalizando próximos a poças permanentes; e larvas de machos e fêmeas com gônadas funcionais, o que pode ser considerado um fenômeno comum para o gênero, já que isto também foi registrado para *S. palustris* por Haddad e Prado (2005) e para *S. botocudo* e *S. mirim* por Caramaschi *et al.* (2009).

Este fenômeno em *Sphaenorhynchus* pode ser simplesmente facultativo ou o espécime pode passar por esta fase perdendo em seguida cauda. Bokermann (1974) relatou que juntamente com os exemplares que apresentavam “uma precocidade na maturidade sexual”, foram coletados espécimes aparentemente normais quanto ao seu desenvolvimento, sugerindo que a precocidade não é devido exclusivamente aos fatores ambientais. Desta forma, eu estou codificando a capacidade de ser pedomórfico e não a pedomorfose *per se*.

0: Ausente

1: Presente

### **166 – Sítio de Oviposição**

*Sphaenorhynchus carneus* e *S. pauloalvini* vocalizam em meio à vegetação flutuante ao nível da água em poças, semelhante ao observado para as outras espécies do gênero (e.g., *S. dorisae*, *S. lacteus* e *S. surdus*), mas ao contrário delas depositam seus ovos fora da água em cima de folhas. Em vista disto, optei por escorrear este caráter somente para as espécies em que havia uma referência explícita do local de oviposição.

0: Terrestre: folhas

1: Terrestre: Fitotelmata

2: Aquático: poças, rios

### **Caráter não ordenado**

## Relações Filogenéticas

Análise 1: Dados Genotípicos. A análise filogenética dos dados genotípicos resultou em duas árvores mais parcimoniosas de 3.972 passos com valores de Goodman-Bremer variando de 1 a 29. Todo o conflito entre as duas árvores restringiu-se a um único ponto: o relacionamento entre *Scinax*, o clado formado por (*Scarthyia* + *Pseudis*) + (*Xenohyla* + *Dendropsophus*) e o clado *Sphaenorhynchus*. Em acordo com esta hipótese filogenética, *Scarthyia* + *Pseudis* é grupo irmão de *Xenohyla* + *Dendropsophus*.

Neste contexto, a monofilia de *Sphaenorhynchus* foi sustentada por 62 transformações e suporte de Goodman-Bremer de valor 11. O maior valor de Goodman-Bremer (15) foi encontrado para o clado formado por *Sphaenorhynchus caramaschii* + (*S. surdus* + *S. orophilus*). *Sphaenorhynchus pauloalvini* apareceu como grupo irmão de todas as outras espécies de *Sphaenorhynchus*. As espécies amazônicas (*S. lacteus* e *S. dorisae*) formaram um clado dentro das espécies pertencentes à Floresta Atlântica. As relações de *Sphaenorhynchus* com os grupos externos apresentaram-se indefinidas (Figura 1, apêndice II).

Análise 2: Dados Fenotípicos. As análises resultaram em duas árvores mais parcimoniosas de 662 passos. O único ponto de conflito foi uma tricotomia dentro do grupo interno entre as espécies *Sphaenorhynchus planicola*, *S. dorisae* e um grupo formado por mais sete espécies de *Sphaenorhynchus*. *Scinax* apresentou-se como grupo irmão dos demais clados. Como sugerido também pela hipótese resultante da análise dos dados genotípicos, *Scarthyia goinorum* formou um clado com *Pseudis minuta*. No entanto, *Xenohyla truncata* passou a ser grupo irmão de *Dendropsophus* + *Sphaenorhynchus* (Figura 2, apêndice II).

Nesta hipótese a monofilia de *Sphaenorhynchus* foi sustentada por 15 sinapomorfias (Quadro 1) com suporte de Goodman-Bremer de valor 11. *Sphaenorhynchus pauloalvini* se manteve como grupo irmão das demais espécies do gênero. As espécies amazônicas (*S. carneus*, *S. dorisae* e *S. lacteus*) não formaram um clado e se apresentaram distribuídas dentro das espécies que ocorrem na Floresta Atlântica. Particularmente, *S. lacteus* é espécie irmã do clado formado por *S. palustris* (*S. bromelicola* + *S. orophilus* (*S. surdus* + *S. caramaschii*)) e *S. surdus* é espécie irmã de *S. caramaschii*, em vez de *S. orophilus*, como sugerido pela hipótese dos dados genotípicos. *Sphaenorhynchus* apresentou-se como grupo irmão de *Dendropsophus* (Figura 2, apêndice II).

Análise 3: Dados Combinados. As análises combinadas dos dados genotípicos e fenotípicos resultaram em duas árvores mais parcimoniosas de 4.653 passos. O conflito entre as árvores resultou em uma politomia dentro do grupo interno entre *Sphaenorhynchus surdus*, *S. caramaschii*, *S. palustris*, *S. bromelicola* e *S. orophilus*. Similarmente aos dados fenotípicos, *Scinax* apresentou-se como grupo irmão dos demais clados. *Scarthyla* e *Pseudis* permaneceram como espécies irmãs e, *Xenohyla* apareceu como grupo irmão de *Dendropsophus*, semelhantemente à hipótese dos dados fenotípicos.

A monofilia de *Sphaenorhynchus* foi diagnosticada por 62 sinapomorfias genotípicas e 17 fenotípicas (Quadro 1) com suporte de Goodman-Bremer 29 (Figura 3, apêndice II). De maneira geral, os resultados obtidos foram muito similares àqueles das análises de somente os dados genotípicos. *Sphaenorhynchus* é grupo irmão de *Xenohyla* + *Dendropsophus*. *S. pauloalvini*, mais uma vez, se manteve como grupo irmão dos demais *Sphaenorhynchus*. *Sphaenorhynchus lacteus* é espécie irmã de *S. dorisae* formando um clado dentro das espécies da Floresta Atlântica. O posicionamento de *S. carneus* em relação às outras espécies do gênero foi o mesmo sugerido pelos dados fenotípicos.

Análise 4: Dados Combinados – Taxa Adicionais. As análises combinadas com sequências para sete taxa adicionais (total 30 taxa) resultaram em 62 árvores mais parcimoniosas de 6.217 passos. Os conflitos entre as árvores restringiram-se a três pontos: (1) o relacionamento entre as espécies de *Scinax*; (2) o posicionamento de *Dendropsophus marmoratus*, *D. elegans* e *D. microps* em relação às outras espécies deste gênero e; (3) o relacionamento entre *Sphaenorhynchus surdus*, *S. caramaschii*, *S. palustris*, *S. bromelicola* e *S. orophilus*. O clado *Scarthyla* + *Pseudis* é grupo irmão de *Scinax*. *Xenohyla* + *Dendropsophus* formaram um clado como sugerido pelas análises dos dados genotípicos e dados combinados.

Na conjuntura destas análises, a monofilia de *Sphaenorhynchus* foi diagnosticada por 24 sinapomorfias fenotípicas e 62 genotípicas com suporte de Goodman-Bremer 20. Os relacionamentos entre as espécies do gênero foram iguais aos propostos pelas análises dos dados combinados. *Sphaenorhynchus* é grupo irmão de (*Xenohyla* + *Dendropsophus*) + *Scinax* (*Scarthyla* + *Pseudis*). (Figura 4, apêndice II).

A inclusão de mais taxa não alterou a hipótese cladística proposta pelos resultados das análises dos dados combinados, ou seja, a monofilia de *Sphaenorhynchus* e os relacionamentos entre suas espécies se mantiveram. Todavia, constatou-se que a adição de grupos externos teve um profundo efeito sobre a otimização dos estados dos caracteres genotípicos e fenotípicos, e.g., as sinapomorfias morfológicas propostas pelas diferentes análises (Quadro 1). Além disto, foi observado que o alinhamento das sequências de DNA foi modificado quando adicionados os grupos externos, em comparação ao obtido dos dados combinados (Análise 3).

### Quadro 1

Lista de sinapomorfias fenotípicas comuns a todas as árvores mais parcimoniosas para *Sphaenorhynchus* resultantes das análises dos três conjuntos de dados \* indica sinapomorfias não homoplásticas.

Sinapomorfias	Análise 2:Dados Fenotípicos	Análise 3: Dados Combinados	Análise 4: Dados Combinados Taxa Adicionais
Formato do nasal redondo. A margem anterior se estende diagonalmente em direção ao <i>planum terminale</i> (2.1)			*X
Frontoparietais com suas paredes internas posteriores paralelas que deixam um espaço muito estreito entre elas (7.3)	X		X
Crista supraorbital extremamente curta. Pequena projeção (12.0)			X
Maxila levemente sobrepondo a premaxila. Maxila apenas cobre o <i>pars dentalis</i> da premaxila (18.1).			X
Largura do processo alar da premaxila estreito, base ocupando cerca de 1/3 do <i>pars dentalis</i> (19.0)		X	
Porção articular do quadrado não mineralizada (24.0)	*X	*X	*X
Comprimento do ramo zigomático do esquamosal, curto, igual a aprox. 2,2x a 2,4x a largura mínima do ramo ventral (26.1)		X	X
Formato do ramo ótico do esquamosal quadrado (28.1)	*X	*X	*X

**Quadro 1**  
Continuação.

<b>Sinapomorfias</b>	<b>Análise 2: Dados Fenóticos</b>	<b>Análise 3: Dados Combinados</b>	<b>Análise 4: Dados Combinados Taxa Adicionais</b>
<i>Gap</i> amplo entre a placa ótica e a porção ossificada da crista parótica tanto pela redução da placa ótica quanto pela pouca ossificação da crista parótica (29.0)			X
Comprimento do ramo posterior do pterigóide moderadamente longo. Comprimento alcançando um pouco mais que $\frac{3}{4}$ da distância entre o ponto de origem do ramo posterior e a porção distal do quadrado (31.2)		*X	*X
Margem mediais dos vômeres distando entre si aproximadamente 45° (Dirigido ao ponto de união entre premaxila e maxila) (39.1)			X
Processo posterolateral da crista parótica ausente (48.0)	X	X	X
Formato do <i>pars externa plectri</i> completamente expandido (50.2)	*X	*X	*X
<i>Pars externa plectri</i> entrando posterodorsalmente ao <i>annulus</i> timpânico (51.1).			X
<i>Pars media plectri</i> orientado ventralmente em relação ao eixo transversal do corpo (52.0)	X	X	X
Processo coronóide muito reduzido (57.1)	*X		
Formato da cartilagem alar retangular (60.0)	*X	*X	*X
Formato da cartilagem oblíqua dorsalmente como uma lâmina cartilaginosa lateral que está mais anterior e menos desenvolvida, dando um aspecto mais côncavo a margem lateral da cartilagem oblíqua (65.1).			X
Sinus hioglossal em formato de O (72.2)	*X	*X	

**Quadro 1**

Continuação.

<b>Sinapomorfias</b>	<b>Análise 2: Dados Fenotípicos</b>	<b>Análise 3: Dados Combinados</b>	<b>Análise 4: Dados Combinados Taxa Adicionais</b>
Hiale se prendendo no limite do processo basal e cápsula ótica (75.1)			X
Formato do corpo do <i>sternum</i> delgado, mais expandido proximalmente, sofrendo um estreitamento médio distal brusco (92.2)		X	X
Processo transverso da vértebra pré-sacral VI perpendicular ao eixo corporal (97.1)		X	X
Ornamentação subcloacal com tubérculos pequenos iguais aos da pele ao redor (120.1)	X		
Membrana pós-axial do dedo III da mão alcançando a metade da primeira falange (130.4).			X
Membrana IV pós-axial da mão alcançando a segunda falange (132.4)			X
Posição dos orifícios nasais em vista dorsal perpendicular ao eixo corporal (134.0)	*X	*X	
Formato das margens internas dos orifícios nasais valvular (135.1)	*X	*X	*X
Elemento suplementar apical presente (149.1)	*X	*X	*X
Inserção do músculo <i>genohyoideus laterais</i> somente no processo posterolateral do hióide (153.0)	*X	*X	
Peritônio parietal branco (164.1)	*X	*X	*X

## DISCUSSÃO

### *O efeito dos terminais com dados faltantes*

Uma das vantagens práticas do método da parcimônia sobre métodos probabilísticos que precisam estimar o comprimento de ramos para inferir as relações cladísticas é que terminais com dados faltantes podem ser analisados simultaneamente com terminais codificados para todos os caracteres incluídos na análise. Esta vantagem é importante dado o amplo reconhecimento da relevância de terminais com dados incompletos. Sendo que o importante é a decisividade dos dados presentes e não a quantidade de dados ausentes (ver Grant e Kluge, 2003). Porém, o risco desses terminais aumentarem o número de árvores igualmente parcimoniosas não deve ser ignorado. Nesse efeito, chamado de "wildcard", a ambiguidade dos poucos dados presentes faz com que esses terminais sejam colocados em várias posições igualmente parcimoniosas, resultando em uma redução da resolução do consenso estrito (Grant e Kluge, 2003). Para planejar os próximos passos no estudo das relações filogenéticas de *Sphaenorhynchus* é importante distinguir entre as politomias causadas pelo conflito geral entre os dados e as causadas pela ambiguidade dos dados presentes em terminais com dados faltantes.

No presente estudo, a preocupação principal foi sobre os terminais amostrados apenas para dados fenotípicos e apenas para dados genotípicos na Análise 4: Dados combinados mais taxa adicionais. Em *Sphaenorhynchus*, os três terminais *S. carneus*, *S. palustris* e *S. bromelicola* foram codificados apenas para dados fenotípicos. No entanto, a ausência de dados genotípicos não causa o efeito "wildcard". *Sphaenorhynchus carneus* está alocado dentro do clado imediatamente menos inclusivo a *S. pauloalvini* em um nodo resolvido. *Sphaenorhynchus palustris* e *S. bromelicola* estão alocados em uma posição similar à da análise de dados fenotípicos, mas formam uma politomia com *S. caramaschii*, *S. surdus* e *S. orophilus*. Conseqüentemente, a obtenção de dados genotípicos será de alta prioridade nos próximos estudos sobre *Sphaenorhynchus* para conseguir resolver o conflito destes relacionamentos.

Todas as espécies de *Sphaenorhynchus* foram codificadas para dados fenotípicos. Mas, dados fenotípicos estão ausentes para vários terminais do grupo externo na Análise 4. Entre eles, apenas *Trachycephalus venulosus* causa dificuldades na interpretação de alguns

caracteres para *Sphaenorhynchus*. Esse táxon ocupa uma posição basal em relação às espécies do grupo externo que fazem parte da tribo Dendropsophini. Por exemplo, em consequência da falta de informação para este táxon duas otimizações são possíveis para o caráter “expansão das diapófises sacrais” (caráter 100): (1) as diapófises sacrais moderadamente expandidas (100.0) seriam uma simplesiomorfia e transformações para diapófises sacrais bastante expandidas (100.1) ocorreriam independentemente em *Sphaenorhynchus pauloalvini*, *S. carneus* e no clado formado por *Xenohyla* + *Dendropsophus* (*Trachycephalus* com estado 100.0), ou (2) as diapófises sacrais moderadamente expandidas (100.0) como uma sinapomorfia para o clado formado pelas espécies de *Sphaenorhynchus* com uma instância de homoplasia no clado composto por *Scinax* + *Scarthyia* + *Pseudis* e uma reversão em *S. pauloalvini* e *S. carneus* (*Trachycephalus* com estado 100.1). Considerando a posição filogenética chave deste táxon, a codificação de caracteres fenotípicos para ele é de alta importância nos próximos estudos sobre *Sphaenorhynchus*.

*Amostragem Taxonômica – Adição de Grupos Externos – Grant (in prep.): “Outgroup sampling criteria: Severity, expansion, and the phylogeny of marsupial frogs”*

Em um estudo filogenético, os terminais do grupo externo são amostrados para comparação com o grupo interno, tarefa que é usualmente conceituada como um método de enraizamento da topologia e direcionamento ou polarização das transformações dos caracteres (Farris, 1972, 1982). Em princípio, a comparação com o grupo externo pode ser realizada sobre um único terminal ou um grupo externo completo (Nixon e Carpenter, 2005).

Segundo Grant (*in prep.*) a adição de terminais do grupo externo em uma análise filogenética testa hipóteses cladísticas em pelo menos três formas: (1) terminais do grupo externo podem ser colocados dentro do grupo interno refutando hipóteses de monofilia do grupo interno e de relacionamentos entre os seus taxa; (2) comparação com o grupo externo pode refutar a hipótese de direção de eventos cladogenéticos e, portanto testar hipóteses de monofilia em todo o grupo interno e; (3) mesmo sem infringir a monofilia do grupo interno, os taxa do grupo externo podem alterar a escolha da topologia ótima para o grupo interno. Além de hipóteses cladísticas, Grant (*in prep.*) aponta que a inclusão de terminais do grupo externo testa hipóteses de homologia do grupo interno (inclusive aquelas que diagnosticam o grupo interno) em pelo menos três formas: (1) as análises das variações dos caracteres dos terminais do grupo externo testam a delimitação e homologia dos estados de caráter antes das análises simultâneas; (2) enraizar usando um terminal do grupo externo ou um clado pode

refutar a hipótese de direção das transformações dos estados de caráter e, portanto testar hipóteses de homologia dentro do grupo interno e; (3) comparação com o grupo externo testa a homologia das sinapomorfias do grupo interno, primariamente aquelas que delimitam o grupo interno.

Com a disponibilidade do uso de sequências para um vasto número de terminais e estudos que demonstram que a amostragem do grupo externo pode refutar as hipóteses de monofilia e relacionamentos dentro do grupo interno, como também mudar a otimização dos caracteres (Dalevi et al., 2001; Braun e Kimball, 2002; Puslednik e Serb, 2008; Graham e Lles, 2009; Spaulding et al., 2009). Qual seria então, a base para limitar a amostragem taxonômica. Grant (*in prep.*) propõe um procedimento heurístico, onde a amostragem taxonômica do grupo externo é sucessivamente expandida até que as hipóteses de topologia e homologia do grupo interno tornem-se estáveis (insensíveis) a adição de mais taxa do grupo externo. Esta estratégia heurística não prevê que mais terminais do grupo externo sejam amostrados ou garante que as hipóteses do grupo interno permanecem insensíveis a uma maior expansão do grupo externo. Mas, fornece uma regra racional para limitar a amostragem do grupo externo em uma dada pesquisa.

Como apresentado, a inclusão de mais taxa não alterou a hipótese cladística proposta pelos resultados da Análise 3: Dados Combinados. Grant (*in prep.*) assume que se a topologia do grupo interno permanecer estável, a avaliação da sensibilidade das hipóteses de homologia para o grupo interno necessita somente que as sinapomorfias que otimizam no nodo da raiz do grupo sejam examinadas e; que a diferença de comprimento dos ramos no nodo da raiz do grupo em foco fornece uma rápida estimativa e pode ser suficiente na maioria dos casos (exceto quando a diferença no comprimento dos ramos é zero). A diferença de comprimento do ramo no nodo da raiz de *Sphaenorhynchus* entre os dois conjuntos de dados foi de sete (Análise 3 e Análise 4). Desta forma, com base na sugestão de Grant (*in prep.*), em futuras análises é necessária a inclusão de mais grupos externos até que as otimizações dos caracteres para o grupo interno tornam-se estáveis.

Como estabelecido anteriormente, neste estudo foi considerada a melhor hipótese de filogenia a resultante da análise combinada de todas as evidências fenotípicas e genotípicas disponíveis. Assim, foram consideradas sinapomorfias fenotípicas as resultantes das hipóteses de homologias sugeridas pela Análise 4: dados combinados mais taxa adicionais. Comentários

sobre estados que otimizaram ambigualmente somente foram feitos quando representaram possíveis sinapomorfias, para isto as árvores fundamentais foram revisadas.

#### *Relacionamentos entre Sphaenorhynchus e os Grupos Externos*

No contexto filogenético sugerido pelas análises de evidência total (Análise 4), *Sphaenorhynchus* é grupo irmão de (*Xenohyla* + *Dendropsophus*) + *Scinax* (*Scarthyla* + *Pseudis*). Clado fracamente suportado (Goodman-Bremer 1) por 48 transformações genotípicas. No entanto, estas análises filogenéticas não foram desenhadas para testar a monofilia da tribo Dendropsophini, e tampouco os relacionamentos entre os gêneros contidos nela. Em contextos filogenéticos mais amplos, *Sphaenorhynchus* poder ser grupo irmão de *Dendropsophus* + *Xenohyla* (Faivovich et al., 2005), de *Scinax* (Wiens et al., 2005; Wiens et al., 2006) ou de *Scarthyla* + *Pseudis* (Wiens et al., 2006) (Figura 1 a-d).

Saliento que as otimizações de estados considerados sinapomorfias fenotípicas compartilhadas por *Sphaenorhynchus* e os grupos externos foram comentadas sob o contexto filogenético resultante da Análise 4.

Faivovich et al. (2005) sugeriram duas prováveis sinapomorfias morfológicas para a tribo Dendropsophini: (1) ausência de papilas linguais nas larvas. Estado de caráter ainda desconhecido para *Sphaenorhynchus* e *Xenohyla* e (2) ausência de excrescências nupciais queratinizadas pigmentadas, advertindo ser homoplásico em *Sphaenorhynchus*. Segundo as minhas observações, todas as espécies de *Sphaenorhynchus* analisadas possuem excrescências nupciais queratinizadas que não estão pigmentadas somente em *S. lacteus* e *S. dorisae* (ver caráter 118). Este desenho amostral é muito diferente do destes autores e muito menos geral para testar a polaridade deste caráter ao nível da tribo. Nesta proposta filogenética restrita, a ausência desta estrutura não é uma sinapomorfia para Dendropsophini ou para os clados contidos nesta tribo. No entanto, este estado poderia ser uma possível sinapomorfia para o clado formado por *Dendropsophus minutus*, *D. anceps*, *D. sanborni* e *D. parviceps*, mas a mudança de posicionamento de *D. mamoratus* torna a otimização deste estado ambígua para o clado.

Como sugerido aqui e por outros autores (e.g., Faivovich et al., 2005; Wiens et al., 2005; Wiens et al., 2006) o clado *Sphaenorhynchus* + (*Scarthyla* + *Scinax*) proposto por Duellman e Wiens (1992) não é monofilético. No entanto, eu testei a otimização de dois

estados sugeridos por eles como sinapomorfias para este agrupamento. Que são como segue. (1) diapófises sacrais estreitas e (2) processo alar da premaxila anteriormente inclinado. Faivovich (2002), sob um contexto filogenético com uma amostragem taxonômica distinta, propõe que as diapófises redondas (estado 21.1: razão entre largura máxima/mínima < 3.5) são uma sinapomorfia para *Scinax*. As diapófises sacrais moderadamente expandidas (100.0), estado similar às diapófises redondas de Faivovich (2002), não é sinapomorfia para os clados formados. A otimização deste estado na árvore pode ocorrer de duas maneiras: primeira, as diapófises sacrais moderadamente expandidas (100.0) são plesiomórficas em relação às diapófises sacrais bastante expandidas (100.1) que ocorrem independentemente em *Sphaenorhynchus pauloalvini*, *S. carneus* e no clado formado por *Xenohyla* + *Dendropsophus*; segunda, as diapófises sacrais moderadamente expandidas (100.0) são uma sinapomorfia para o clado formado pelas espécies de *Sphaenorhynchus* (exceto por *S. pauloalvini* e *S. carneus*) com uma instância de homoplasia no clado composto por *Scinax* + (*Scarthyla* + *Pseudis*). A orientação do processo alar foi redefinida como a “orientação da premaxila” (ver caráter 20). Uma maxila dirigida anteriormente (20.0) também não é uma sinapomorfia e otimiza de duas formas: a maxila dirigida anteriormente pode aparecer como uma simplesiomorfia para *Dendropsophini* ou como uma sinapomorfia para *Sphaenorhynchus*, com instância de homoplasia nos grupos externos.

Faivovich et al. (2005) sugeriram que a redução do quadradojugal (provável sinapomorfia para *Dendropsophus*) deveria ser reavaliada. Pois, aparentemente, em níveis diferentes, este osso parecia estar reduzido em *Xenohyla* e *Sphaenorhynchus*. De acordo com as minhas observações, a redução deste elemento ocorre devido a dois eventos independentes: (1) a não ossificação da porção articular do quadradojugal (24.1) que de certa forma remete a uma redução posterior do quadradojugal, no que diz respeito a ossificação. Este estado é uma sinapomorfia não homoplásica para *Sphaenorhynchus* e; (2) a redução anterior do quadradojugal (23.0 e 23.1). O quadradojugal reduzido anteriormente foi verificado em graus diferentes em *Dendropsophus*, *S. carneus* e *S. pauloalvini*. As outras espécies de *Sphaenorhynchus* e *Xenohyla truncata* apresentaram o quadradojugal longo (23.2).

Nenhum clado apresentou estados sinapomórficos para o caráter grau de extensão anterior do quadradojugal (caráter 23). Entretanto, em *Sphaenorhynchus* a redução anterior do quadradojugal pode ter acontecido duas vezes independentemente, em níveis diferentes dentro do gênero (*S. carneus* 23.0 e *S. pauloalvini* 23.1, cada estado com uma instância de

homoplasia em *Dendropsophus*) a partir do estado plesiomórfico 23.2; ou um quadradojugal curto (23.1) pode ter aparecido como uma sinapomorfia para o gênero, com o surgimento isolado de um quadradojugal extremamente curto (23.0) em *S. carneus* (cada estado com uma instância de homoplasia em *Dendropsophus*), seguido por uma reversão a um quadradojugal longo (23.2) no clado que exclui *S. pauloalvini* e *S. carneus*. Note que esta última requer um passo a mais na árvore. Então, em *S. pauloalvini* e *S. carneus* o quadradojugal se apresenta reduzido tanto posteriormente quanto anteriormente. Em contraposição aos *Dendropsophus* que apresentam apenas a redução anterior deste osso e aos demais *Sphaenorhynchus* que apresentam somente a redução posterior deste elemento (porção articular do quadradojugal não ossificada).

Nestas análises *Sphaenorhynchus* não é táxon irmão de *Xenohyla*. Contudo, Izecksohn (1998) sugeriu que *Xenohyla* compartilhava com *Sphaenorhynchus* o (1) número reduzido de dentes na maxila; (2) uróstilo relativamente curto; (3) o processo transversal da vértebra pré-sacral IV alongado e orientado posteriormente e; (4) o quadradojugal sem contato com a maxila. De acordo com topologia proposta, a otimização ambígua do estado maxila sem dentes em 35 % a 40% do seu comprimento (17.3) para *Sphaenorhynchus* foi influenciada pelo tratamento de estados inaplicáveis como dados faltantes. Devido a isto, duas situações são possíveis: este estado pode ser uma sinapomorfia para o clado formado por *Sphaenorhynchus* menos *S. pauloalvini* ou para clado menos inclusivo a *S. planicola*, em ambas as hipóteses há uma instância de homoplasia em *Xenohyla*. De qualquer forma, é um estado apresentado pelas espécies de *Sphaenorhynchus* que possuem dentes (exceto *S. pauloalvini*), com homoplasia em *Xenohyla truncata*. A característica dois não foi testada. Apesar disto, eu notei que *Sphaenorhynchus carneus* apresenta o uróstilo mais curto que as demais espécies de *Sphaenorhynchus*, característica que deve ser avaliada futuramente. A característica três pode ser separada em dois caracteres independentes: a orientação e o comprimento dos processos transversos da pré-sacral IV. Apenas o comprimento foi informativo (ver caráter 96). O processo transversal da pré-sacral IV alongado (estado 96.2) é uma sinapomorfia única e não reversível para o clado de *Sphaenorhynchus* que exclui *S. pauloalvini*. Conforme as minhas observações, o quadradojugal sem contato com a maxila se deve a dois caracteres independentes: a extensão posterior da maxila (ver caráter 14) e o grau de extensão anterior do quadradojugal (ver caráter 23). Para *S. pauloalvini* se tem a combinação da maxila (14.1) e quadradojugal (23.1) moderadamente desenvolvidos. Já em *S. carneus*, uma maxila (14.0) e quadradojugal (23.0) reduzidos. No entanto, o não contato entre

estas estruturas nos demais *Sphaenorhynchus* e *Xenohyla* se deve a uma extrema (14.0) e moderada (14.1) redução posterior da maxila, respectivamente. A otimização do caráter 23 já foi comentada anteriormente e; em relação ao caráter 14, uma maxila extremamente reduzida posteriormente (14.0) é uma sinapomorfia não homoplásica para o clado de *Sphaenorhynchus* menos *S. pauloalvini*.

A presença de um pequeno processo transversal no uróstilo foi sugerida por Faivovich et al. (2005) como uma provável sinapomorfia para *Xenohyla*. Para *Sphaenorhynchus*, esta estrutura estava ausente ou presente em diversos graus de desenvolvimento (variando intra e interespecificamente). Em *S. pauloalvini*, mais que os processos transversos, uma 10ª vértebra estava presente (Figura 19 B, apêndice I). Característica que parece estar ligada ao fenômeno de teratogênese. Pois, esta estrutura não foi constatada em mais cinco espécimes de *S. pauloalvini* analisados.

Segundo Barrio-Amorós et al. (2006), *Sphaenorhynchus* compartilhava com *Scarthyra* e *Pseudis* a mineralização dos elementos intercalares. Estes três gêneros não formaram um agrupamento monofilético. Contudo, *Scarthyra* é táxon irmão de *Pseudis*. Este grupo apresenta como sinapomorfia os elementos intercalares completamente mineralizados (106.2) (estado plesiomórfico 0/1), estado com instâncias de homoplasia em *S. pauloalvini* e *S. caramaschii* e em um clado de *Dendropsophus* composto por *D. minutus*, *D. anceps*, *D. sanborni* e *D. parviceps*.

#### *A monofilia de Sphaenorhynchus e o relacionamento entre suas espécies*

No contexto filogenético resultante das análises dos quatro conjuntos de dados *Sphaenorhynchus* é monofilético e *S. pauloalvini* ocupa a posição mais basal em relação às outras espécies do gênero. Na análise de evidência total (Análise 4) a monofilia de *Sphaenorhynchus* é suportada (Goodman-Bremer 20) por 62 sinapomorfias genotípicas e 24 fenotípicas (Quadro 1). As sinapomorfias 7.3, 130.3 e 132.3 devem ser tratadas e aplicadas com precaução, pois seus estados plesiomórficos são ambíguos.

Duellman e Wiens (1992), com base na observação de seis espécies (*Sphaenorhynchus bromelicola*, *S. carneus*, *S. dorisae*, *S. lacteus*, *S. orophilus* e *S. planicola*), propuseram as seguintes sinapomorfias para o gênero: (1) ramo posterior do pterigóide ausente; (2) ramo

zigomático do esquamosal ausente ou reduzido a um vestígio; (3) *pars facialis* da maxila e processo alar da pré-maxila reduzidos; (4) processo pós-orbital da maxila reduzido, sem contato com o quadradojugal; (5) palatino reduzido ou ausente; (6) *pars externa plectri* entrando ao anel timpânico posteriormente (em vez de dorsalmente); (7) *pars externa plectri* redonda; (8) hiale curvado medialmente; (9) coracóides e clavícula alongados; (10) processo transversal da vértebra pré sacral IV alongado e orientado posteriormente e; (11) préplex ossificado, em forma de lâmina.

Estas características foram observadas, codificadas e quando necessário modificadas. São como segue. (1) Em todas as espécies de *Sphaenorhynchus* o ramo posterior do pterigóide está presente, entretanto há uma redução no comprimento (Figura 9A-E, apêndice I). O ramo posterior do pterigóide moderadamente longo (31.2) é uma sinapomorfia para o gênero. Sendo a extrema redução desta estrutura (31.0) uma sinapomorfia única que suporta o clado que exclui *S. pauloalvini*; (2) Somente *S. carneus* apresenta o ramo zigomático do esquamosal ausente (25.0). Portanto, caracterizando, um estado autapomórfico. O ramo zigomático curto (26.1) é uma sinapomorfia do gênero, com uma instância de homoplasia em *Dendropsophus elegans*. A característica (3) trata-se da redução de duas estruturas independentes: processo alar da premaxila e *pars facialis* da maxila. As quais foram codificadas como a largura da base do processo alar da premaxila e a altura do *pars facialis* da maxila (ver caracteres 19 e 13, respectivamente). Um processo alar com a base estreita (19.0) é plesiomórfico para *Sphaenorhynchus*. Com a transformação para um processo alar com a base moderadamente larga (19.1) em *S. bromelicola*, estado homoplásico compartilhado com o clado formado por *Scinax*, *Scarhyla*, *Pseudis*, *Dendropsophus* e *Xenohyla*. A *pars facialis* com altura correspondente a 1x - 1.2x a altura da *pars dentalis* da maxila (13.0), (4) uma maxila posteriormente reduzida que quase alcança ou alcança a metade da órbita (14.0) e (5) palatinos que cobrem somente  $\frac{3}{4}$  do *planum anterorbitale* (42.1) são sinapomorfias não homoplásicas do clado de *Sphaenorhynchus* que não possui *S. pauloalvini*. (6) a *pars externa plectri* entrando posterodorsalmente ao *annulus* timpânico (51.1) (com uma instância de homoplasia em *Xenohyla*) e (7) completamente expandida (50.2) confirmaram-se como sinapomorfias para o gênero; (8) os hiales estão curvados medialmente em *Sphaenorhynchus*, exceto por *S. pauloalvini*. No entanto, nenhum estado deste caráter foi sinapomórfico para *Sphaenorhynchus*. A otimização do estado hiales fortemente curvados medialmente (73.2) pode ocorrer como uma sinapomorfia não homoplásica para o clado de *Sphaenorhynchus* menos *S. pauloalvini* ou otimizar sobre o nodo que exclui *S. carneus* e *S. pauloalvini*; (9) os

coracóides e clavículas alongados, estados 85.1 e 86.1 também não são sinapomorfias para *Sphaenorhynchus*. Porém, podem otimizar sobre o nodo do clado de *Sphaenorhynchus* que exclui *S. pauloalvini*, transformação com uma instância de homoplasia em *Phyllodytes luteolus* ou serem plesiomórficos em relação aos estados 85.0 e 86.1; (10) como citado anteriormente o processo transversal pré-sacral IV mais alongado (95.2) é uma sinapomorfia não homoplásica para o clado de *Sphaenorhynchus* menos *S. pauloalvini* e; (11) o prépolex em formato laminar não é uma sinapomorfia para *Sphaenorhynchus* (103.0), apresentando-se como um estado plesiomórfico em relação aos estados 103.1 e 103.2.

De acordo com Faivovich et al. (2005), algumas características larvais poderiam ser consideradas sinapomorfias para *Sphaenorhynchus*, como a morfologia e a posição das narinas. Confirmando essas sugestões, o formato valvular das margens internas dos orifícios nasais (135.1) é uma sinapomorfia única para o gênero. Os orifícios nasais com seu eixo maior perpendicular ao eixo axial (134.0) otimizam ambigualmente para *Sphaenorhynchus*, devido à falta de estados para as taxa *Phyllodytes luteolus* e *Trachycephalus venulosus*. Nas figuras apresentadas nas descrições das larvas destas espécies aparentemente os orifícios nasais se apresentam com seu eixo maior paralelo ao eixo axial (134.1) (Bokermann, 1966b; Zweifel, 1964). O que faz hipoteticamente o estado 134.0 ser uma sinapomorfia única para *Sphaenorhynchus*. Todavia, a informação sobre os orifícios nasais deve ser confirmada para estas espécies.

Confirmando a observação de Faivovich et al. (2005), outra sinapomorfia não homoplásica de *Sphaenorhynchus* é o músculo *intermandibularis* diferenciado em um elemento suplementar apical (Figura 29, apêndice I). O elemento apical também está presente em outras espécies de hilíneos pertencentes à tribo Hylini (*Acris crepitans*, *Acris gryllus*) e à tribo Lophiohylini (e.g., *Osteopilus brunneus*, *Osteopilus dominicensis*) (Tyler, 1971; Trueb e Tyler, 1974). O excepcional desenvolvimento posterior do músculo *interhyoideus* foi notado por Tyler (1971) e sugerido por Faivovich et al. (2005) como uma provável sinapomorfia para o gênero. Eu codifiquei a extensão posterior da prega deste músculo (caráter 152) e o estado em que ela alcança a margem posterior do músculo *pectoralis esternalis* (152.4) é uma sinapomorfia para o clado de *Sphaenorhynchus* que exclui *S. pauloalvini*, com uma instância de homoplasia em *Dendropsophus*.

O peritônio parietal branco também se confirmou como sinapomorfia não homoplásica de *Sphaenorhynchus* (caráter 164) (com muitas instâncias de homoplasia em Hyliinae), antes sugerido por Faivovich et al. (2005). Os iridóforos estão presentes tanto no peritônio visceral quanto no parietal dos centronelídeos, onde a variação no padrão de distribuição e extensão dos iridóforos sobre o peritônio parietal e visceral é bastante informativa na descrição e comparação entre as espécies (Cisneros-Heredia e McDiarmid, 2007). A maioria das espécies de *Aplastodiscus* possui um peritônio parietal branco (Garcia e Faivovich, com. pessoal) o qual também ocorre em outros Cophomantini (grupos *Hylocirtus bogotensis*, *Hypsiboas granosa* e *H. punctatus*, *H. marginatus*; Ruiz-Carranza e Lynch, 1982; Garcia, 2003; Faivovich, com. pessoal).

O terminal *Sphaenorhynchus carneus*, exceto pela Análise 1 (onde não está presente), mantém seu posicionamento em relação aos outros *Sphaenorhynchus* fazendo parte de um clado bem suportado nas três análises (Figuras 2-4, apêndice II). Na análise de evidência total (Análise 4), este clado é suportado por um valor de Goodman-Bremer 17 e diagnosticado por 20 sinapomorfias fenotípicas: (1) *tectum synoticum* ossificado (8.1); (2) altura da *pars facialis* correspondente a 1x - 1.2x a altura da *pars dentalis* da maxila (13.0); (3) maxila com tamanho de aproximadamente 1/2 da distância "X", em que a maxila quase alcança ou alcança a metade da órbita (14.0); (4) maxila e premaxila livres, não há sobreposição entre maxila e premaxila (18.0); (5) porção médio distal do ramo posterior do pterigóide direcionada posteriormente (30.1); (6) ramo posterior do pterigóide extremamente reduzido (31.0); (7) palatinos cobrindo somente 3/4 do *planum anterorbitale* (42.1); (8) processos alares do parasfenóide curtos, ao nível da fossa condilóide (47.1); (9) anel timpânico profundo e expandido internamente, a superfície medial é inusualmente côncava (49.1); (10) porção proximal da *pars media plectri* simples (55.0); (11) anguloespinal e dentário separados por um espaço notável que deixa a cartilagem de Meckel descoberta (58.1); (12) processo anterior do hiale ausente (68.0); (13) hiale se prendendo ao processo basal (75.0); (14) processo cardíaco do cricóide não curvado ventralmente (78.0); (15) massas fibrosas condrificadas (82.1); (16) comprimento do processo transversal da pré-sacral IV se alinhando por trás da margem posterior da base do processo transversal da pré-sacral V (96.2); (17) membrana timpânica ausente (117.0); (18) extensão posterior da prega do músculo *interhyoideus* alcançando a margem posterior do músculo *pectoralis esternalis* (152.4); (19) músculo *hyoglossus* se originando no início do 1/3 posterior do processo posteromedial (156.0) e; (20)

músculo *petrohyoideus* anterior com uma camada de fibras sobre a placa hióide (158.1). Algumas das quais já foram discutidas anteriormente.

Embora o músculo *hyoglossus* com origem no início do 1/3 posterior do processo posteromedial (156.0) e o músculo *petrohyoideus* anterior com uma camada de fibras sobre a placa hióide (158.1) serem sinapomorfias não homoplásticas para este clado; estes caracteres foram escoreados como desconhecidos para muitos grupos externos, devendo ser revisados futuramente.

Ainda que o posicionamento filogenético de *Sphaenorhynchus planicola* em relação às outras espécies não esteja definido no cladograma resultante da Análise 2, este conflito é resolvido nas Análises 1, 3 e 4 (Figuras 1, 3 e 4, apêndice II). *Sphaenorhynchus planicola* se apresenta como espécie irmã de (*S. dorisae* + *S. lacteus*) + *S. prasinus* (*S. palustris* + *S. bromelicola* + *S. orophilus* + *S. surdus* + *S. caramaschii*). Este clado é suportado (Goodman-Bremer 7) por nove sinapomorfias. Que são como segue. (1) nasal retangular ou quadrado (2.3); (2) cartilagem prenasal superior separada por um tecido não condricificado da cartilagem alar (59.0); (3) lâmina *nariocoanalis* conectada a parede postnasal (67.0); (4) escápulas curtas com comprimento de 1.15x a 1.4x a altura da porção que contacta a supraescápula (87.0); (5) ornamentação subcloacal como uma prega dérmica (*flap*) de margens arredondadas (120.4); (6) ornamentação dérmica no tarso como uma prega quase reta (123.3); (7) ornamentação dérmica da articulação tíbia-tarso como um apêndice calcâneo reto (124.2); (8) papilas submarginais do disco oral das larvas ausentes (137.0) e; (9) *pars dorsalis* do músculo *sternohyoideus* inserida na placa hióide e na membrana *thyroide* (155.1). Os caracteres 137 e 155 devem ser revisados posteriormente, pois para muitos grupos externos foram escoreados como desconhecidos.

Jurgens (1971) observou em *Spea intermontana* que a lâmina *nariocoanalis* estava conectada a parede postnasal. Da Silva (1998, não publicado), usando o nome processo *lingularis*, verificou que a lâmina *nariocoanalis* estava conectada a parede postnasal (67.0) em *Sphaenorhynchus dorisae* e *S. lacteus* e não conectada em *S. carneus* e nos outros gêneros analisados por ele. Talvez, a presença desta conexão no clado de *Sphaenorhynchus* menos *S. pauloalvni* e *S. carneus* se trate de uma sinapomorfia única dentro de Hylidae.

Outra sinapomorfia interessante para o clado citado acima é a presença de escápulas curtas com comprimento de 1.15x a 1.4x a altura da porção que contacta a supraescápula

(87.0) que contrastam com os coracóides e clavículas alongadas. Esta sinapomorfia apresenta instâncias de homoplasia em *Xenohyla truncata* e *Pseudis minuta*. Em um contexto filogenético mais amplo, outra possível homoplasia poderia estar em *Phyllodytes luteolus* que também apresenta este estado.

As espécies amazônicas (*Sphaenorhynchus carneus*, *S. dorisae* e *S. lacteus*) estão posicionadas filogeneticamente dentro das espécies da Floresta Atlântica e não formam um grupo monofilético. Porém, *S. lacteus* e *S. dorisae* formam um clado suportado (Goodman-Bremer 8) por 37 sinapomorfias genotípicas e três fenotípicas: (1) elemento intercalar não mineralizado (106.0); (2) membrana pré-axial do dedo V da mão alcançando a metade da segunda falange (133.4) e; (3) ramo I do músculo *petrohyoideus* posterior inserido na base do processo posteromedial do hióide (159.0). Este último caráter é desconhecido para muitos grupos externos, devendo ser revisado posteriormente.

O agrupamento formado por (*Sphaenorhynchus dorisae* + *S. lacteus*) + *S. prasinus* (*S. palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii*) é suportado (Goodman-Bremer 6) por 30 sinapomorfias genotípicas e três fenotípicas: (1) dentes vomerianos dispostos irregularmente sobre o processo dentífero (40.0); (2) massas fibrosas alongadas, paralelas ao eixo axial ocupando um pouco menos que a metade do espaço interno do aritenóide (83.1) e; (3) *sternum* largo, sua extremidade proximal é mais larga que no estado anterior e o estreitamento médio distal é mais leve (92.3). Os dentes vomerianos dispostos irregularmente sobre os processos dentíferos (40.0) é uma sinapomorfia única para este clado (Figura 11 B, apêndice I). No entanto, em *S. orophilus* há uma reversão para o estado 40.1 e *S. dorisae* é polimórfico para este caráter.

O clado formado por *Sphaenorhynchus prasinus* + (*S. palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii*) é suportado (Goodman-Bremer 7) por 18 transformações genotípicas e apenas uma fenotípica: processo transversal da vértebra pré-sacral VI posteriormente inclinado (97.0).

A Análise 4 resultou em um cladograma com politomia entre as espécies *Sphaenorhynchus palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii*. No entanto, o clado formado por estas espécies foi suportado (Goodman-Bremer 7) por sete sinapomorfias fenotípicas: (1) maxila levemente sobrepondo a premaxila, com a maxila apenas cobrindo a *pars dentalis* da premaxila (18.1); (2) porção da cartilagem prenasal

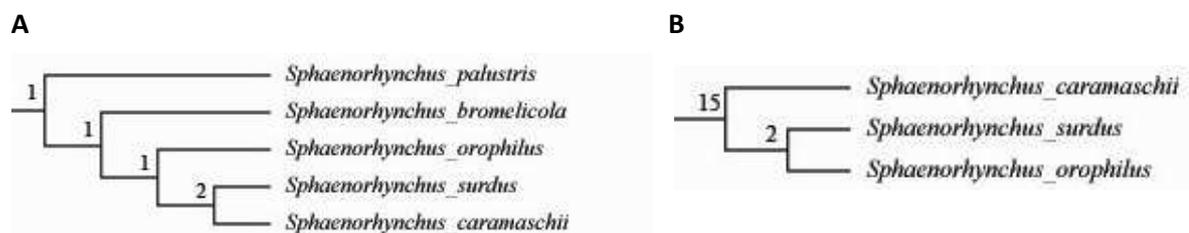
inferior que articula com o *solum nasi* orientada lateralmente (62.1); (3) lâmina cartilaginosa que se estende desde o ramo cartilaginoso até a margem inferior da cartilagem oblíqua presente (66.1); (4) linha branca dorsolateral presente (115.1); (5) prega crenulada como ornamentação dérmica do antebraço (122.2); (6) prega crenulada como ornamentação dérmica do tarso (123.2) e; (7) tubérculos como ornamentação dérmica da articulação tíbia-tarso (124.1). A presença de uma lâmina cartilaginosa que se estende desde o ramo cartilaginoso até a margem inferior da cartilagem oblíqua (Figura 13 B, apêndice I) é uma sinapomorfia homoplásica bastante interessante para este clado, por não ter sido observada em outros hilídeos. Este estado apresenta instâncias de homoplasia em *S. pauloalvini*, *S. lacteus* e no clado *Dendropsophus*.

Como comentado acima, devido à politomia existente entre as espécies *Sphaenorhynchus palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii*, as suas relações permanecem virtualmente desconhecidas. Porém, os agrupamentos propostos pelas análises independentes dos dados genotípicos (Análise 1) e dados fenotípicos (Análise 2) podem sugerir algum nível de relacionamento entre elas. Como nota, as sinapomorfias fenotípicas dos nodos destes cladogramas foram otimizadas sob contexto filogenético resultante dos dados fenotípicos e, portanto, diferem das otimizações derivadas das análises dos dados combinados mais taxa adicionais (Análise 4), como demonstrado no quadro 1. Por exemplo, a membrana pós-axial do dedo III da mão alcançando a metade da primeira falange (130.4) é uma sinapomorfia para o clado composto por *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii*, mas em um contexto mais amplo é uma sinapomorfia para o gênero (Análise 4, Quadro 1).

Como proposto pelas análises fenotípicas *Sphaenorhynchus palustris* é espécie irmã de *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii*. O clado imediatamente menos inclusivo a *S. palustris* é fracamente suportado (Goodman-Bremer 1 ) por três sinapomorfias (Figura 2A). Que são as seguintes: (1) processo esofágico dirigido obliquamente. O processo esofágico faz aproximadamente um ângulo de 45° com o eixo axial da cartilagem do anel cricóide (77.3); (2) membrana pós-axial do dedo III da mão alcançando a metade da primeira falange (130.4) e; (3) membrana pré-axial do dedo IV da mão alcançando a metade da primeira falange (131.4). O clado composto por *Sphaenorhynchus orophilus*, *S. caramaschii* e *S. surdus* também é fracamente suportado (Goodman-Bremer 1) por três sinapomorfias (Figura 2A): (1) processo posteromedial do parasfenóide alcançando a metade da distância

entre a margem posterior do processo alar e o *foramen magnum* (46.2); (2) processo cardíaco do cricóide laminar, da mesma largura ou levemente mais delgado que as partes adjacentes do anel (79.2) e; (3) dois elementos distais presentes no prehallux (109.1). Seguidamente, o clado *S. surdus* + *S. caramaschii* é fracamente suportado (Goodman-Bremer 2) por duas sinapomorfias: (1) palatinos cobrindo a margem anterior ventral da órbita (42.2) e (2) processo cardíaco do cricóide não curvado ventralmente (78.0). Toledo et al. (2007) ao descreverem *S. caramaschii*, diferenciam-o de *S. surdus*, principalmente, por ter um longo canto de chamada, geralmente com mais que cinco segundos de duração (usualmente abaixo de dois segundos em *S. surdus*) e por ter um intervalo maior entre as notas, maior que 0.1 segundos (abaixo de 0.09 segundos em *S. surdus*). Os fragmentos 12S, tRNA valine e 16S (~2.475 pb) destas espécies diferem entre si 6,02 %, confirmando a comunicação pessoal de J. Faivovich em Toledo et al. (2007).

Contradizendo o cladograma proposto pelos dados fenotípicos (Análise 2), as topologias resultantes das análises dos dados genotípicos (Análise 1) propõem que *Sphaenorhynchus surdus* é mais próximo de *S. orophilus*, do que de *S. caramaschii*. Relacionamento fracamente suportado (Goodman-Bremer 2) por 4 transformações genotípicas (Figura 2B). Entretanto, o nodo que suporta *S. caramaschii* como espécie irmã de *S. surdus* + *S. orophilus* tem valor de Goodman-Bremer de 15. Note que os relacionamentos propostos pelos dados fenotípicos e genotípicos para estas espécies são fracamente suportados por valores de Goodman-Bremer 1 e 2, exceto pelo valor 15 para o clado *Sphaenorhynchus caramaschii* + (*S. surdus* + *S. orophilus*).



**Figura 2** – Relacionamentos entre as espécies de *Sphaenorhynchus*. (A) Dados fenotípicos; (B) Dados genotípicos. Números acima dos nodos representam os valores de Goodman-Bremer.

### *Pedomorfose*

Com base em análises de eventos de heterocronia durante a metamorfose, Fabrezi e Quinzio (2008) propuseram dois padrões derivados de metamorfose em anuros: (1) metamorfose precoce (com uma taxa de desenvolvimento rápida) na qual as características

adultas já estão presentes nas larvas (*Lepidobatrachus* spp.) e (2) metamorfose tardia (com uma baixa taxa de desenvolvimento), como ocorre em *Pseudis platensis*, na qual a morfologia somática das larvas ainda está presente quando a maioria das características adultas já está bem diferenciada. Pedomorfose, como descrita no urodela *Ambystoma* (Reilly et al., 1997) representa um evento heterocrônico no qual o desaparecimento de algumas características larvais é desacelerado. Quando o tempo de início da maturidade sexual é mantido em comparação a ontogenia ancestral, a reprodução retendo características larvais é identificada como neotenia (Gould, 1977). Em anuros não foi observada a reprodução em indivíduos heterocrônicos. Sob o contexto filogenético da Análise 4 (evidência total), a capacidade de ser pedomórfico (ver caráter 165) não é uma sinapomorfia. Em algumas árvores este estado aparece como uma sinapomorfia para *S. palustris* + *S. bromelicola*, em outras como duas transformações independentes em cada espécie ou ainda como uma sinapomorfia para o clado formado por *S. palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. caramaschii* e *S. surdus*. Sobre a topologia resultante dos dados fenotípicos (Análise 2) a otimização deste estado é ambígua, aparecendo também como uma sinapomorfia para o clado formado por *S. palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. caramaschii* e *S. surdus* ou como duas transformações independentes em *S. bromelicola* e *S. palustris*.

Dentro da tribo Dendropsophini além das espécies de *Sphaenorhynchus* (*S. palustris*, *S. bromelicola*, *S. botocudo* e *S. mirim*), algumas espécies de *Pseudis* (*Pseudis platensis* e *Pseudis paradoxa*) apresentam um deslocamento no tempo de maturidade sexual (Fabrezi et al., 2010; Downie et al., 2009). O que pode sugerir que a capacidade de ser pedomórfico (166.1) tenha surgido mais que uma vez dentro da tribo Dendropsophini. Talvez, a inclusão nas análises de *S. botocudo* e *S. mirim* possa mudar a otimização deste caráter dentro de *Sphaenorhynchus*. Morfologicamente *S. botocudo* assemelha-se a *S. palustris*. Então, este estado poderia ser uma provável sinapomorfia para estas duas espécies mais *S. bromelicola* ou para o clado formado por elas e mais *S. caramaschii* e *S. surdus*. Por outro lado, *S. mirim* é mais semelhante a *S. planicola*. Em uma proposta em que *S. mirim* se posicione mais próximo filogeneticamente de *S. planicola* deslocaria esta transformação para um nodo mais basal ou uma instância de homoplasia poderia surgir dentro de *Sphaenorhynchus*.

Alguns caracteres podem estar ligados a pedomorfose como, e.g., a porção articular do quadrado não mineralizada (24.0). Como o quadradojugal é um dos ossos que aparecem mais tardiamente, ao final da metamorfose ou logo depois do término da mesma (Trueb, 1973),

talvez o grau ossificação deste osso possa estar associada a este fenômeno. Da mesma forma, a ausência ou a presença reduzida de outros ossos ou de parte deles, exemplos: maxila posteriormente reduzida (14.0); processo dentígero separado do corpo principal do vômer (35.0); ramo posterior do pterigóide extremamente reduzido (31.0); e a presença de dentes maxilares, premaxilares e vomerianos não pedicelados (16.1 e 38.0) e a conexão entre a lâmina *nariocoanalis* e a parede postnasal (67.1) condição sugerida por Jurgens (1971) como neotênica para *Scaphiopus* e; o anguloespenial e dentário sem contato. Um espaço notável é visível. A cartilagem de meckel está descoberta (58.1) também podem estar ligados a uma baixa taxa de desenvolvimento. Entretanto, é necessário conhecer mais e melhor a natureza e a distribuição taxonômica da pedomorfose em todas as espécies de *Sphaenorhynchus*. Para consequentemente estabelecer uma conexão entre a pedomorfose e o desenvolvimento destas estruturas. Para isto, estudos relacionados a séries ontogenéticas podem fornecer informações sobre o papel da heterocronia durante o desenvolvimento em anuros.

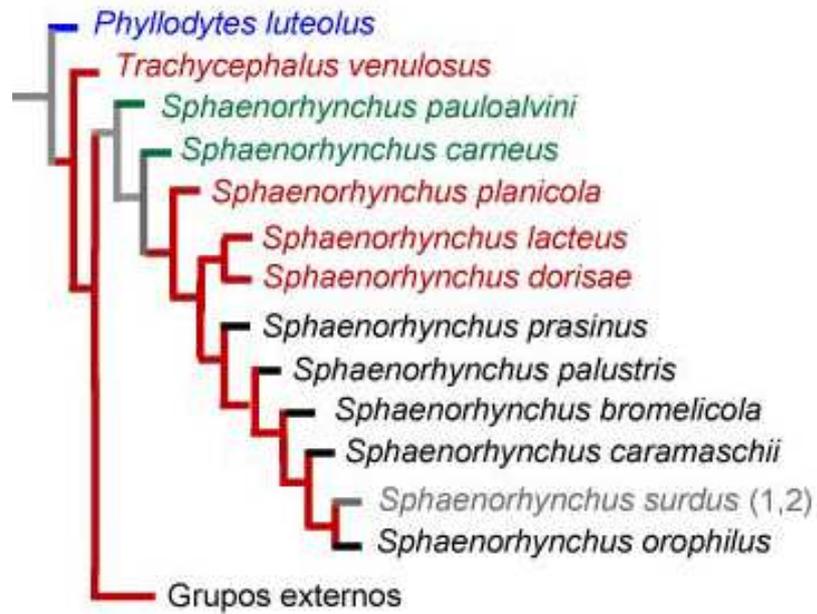
#### *Sítio de oviposição*

*Sphaenorhynchus dorisae* vocaliza em meio ou sobre a vegetação flutuante de poças ou lagoas e deposita os ovos diretamente na água. Característica semelhante a observada para *S. surdus* e *S. lacteus* (Grant, com. pessoal; Rodriguez e Duellman, 1994). *Sphaenorhynchus carneus* e *S. pauloalvini* (Hödl, 1977, Bokermann, 1973) também utilizam o mesmo sítio de vocalização, entretanto, põe seu ovos sobre as folhas. Por sua vez, Bokermann (1966a) relatou que *S. bromelicola* habita bromélias terrestres, e apesar de não mencionar a vocalização e tampouco o local exato de oviposição, a presença de larvas em vários estágios de desenvolvimento, descartando o transporte de girinos pelos adultos, indica que este hábitat foi usado para este fim. De outro modo, Bokermann (1974) registra que *S. bromelicola* foi encontrado vocalizando em poças formadas no período chuvoso, também não cita explicitamente o local de oviposição, mas a presença de larvas indica o uso das poças para oviposição. Apesar destas fortes suspeitas sobre o local de oviposição de *S. bromelicola*, optei por não escorrear estados para esta espécie. Pois, da mesma forma que para as outras espécies que não se tem menção explícita sobre o local de oviposição, não posso afirmar, por exemplo, que quando *S. bromelicola* vocalizava na poça os ovos foram depositados sobre as folhas como em *S. pauloalvini* e *S. carneus* ou se diretamente na água.

A localidade onde *S. bromelicola* ocorre (Maracás, Bahia) apresenta uma vegetação do tipo Caatinga, ambiente que leva alguns anuros a utilizarem as bromélias como refúgio. Neste caso, uso desse hábitat por esta espécie pode ser explicado devido ao fato das bromélias propiciarem desenvolvimento de um ambiente especial onde se encontram inúmeros invertebrados, os quais fazem parte da dieta dos anuros, além de servirem como fontes complementares de água durante os períodos de seca. Um segundo registro do uso de bromélias como sítio de oviposição por *Sphaenorhynchus* foi obtido para um exemplar de *S. surdus* coletado em Torres-RS (Grant, com. pessoal), os ovos foram encontrados nas axilas desta planta. Desta forma as bromélias são usadas facultativamente como sítio de oviposição e vocalização para *S. surdus* e possivelmente para *S. bromelicola*. As espécies do grupo *Scinax perpusillus* e de *Phyllodytes* utilizam estritamente as bromélias como hábitat durante toda a sua vida e põem ovos nas axilas destas plantas. Hilídeos pertencentes ao gênero *Bromeliohyla* também põem ovos em bromélias e alguns *Osteocephalus*, *Isthmohyla zeteki* e *Osteopilus* possuem o mesmo hábito.

Possivelmente, as espécies *Sphaenorhynchus prasinus*, *S. caramaschii*, *S. palustris* e *S. planicola* para as quais não se tem informação precisa sobre o sítio de oviposição, mas que vocalizam em meio ou sobre a vegetação flutuante, põem ovos na água. No entanto, é preciso confirmar esta observação.

Diante da hipótese filogenética resultante dos dados combinados mais taxa adicionais (Análise 4) a otimização dos estados do caráter sítio de oviposição é ambígua dentro de *Sphaenorhynchus*. Apesar de não ter aceitado estados para *Trachycephalus venulosus*, é conhecido que esta espécie põe os ovos diretamente sobre a água (Zweifel, 1964). Desta forma, o estado ancestral sugerido seria a deposição de ovos na água (166.2). A otimização deste caráter então depende do estado aceito para *S. planicola*. Sob um contexto no qual *S. planicola* apresenta o estado 166.2, é igualmente parcimonioso a otimização do estado “utilização de folhas” (166.1) como uma sinapomorfia para *Sphaenorhynchus* com uma reversão a deposição de ovos na água otimizada sobre o nodo do clado formado por *Sphaenorhynchus planicola*, *S. dorisae*, *S. lacteus*, *S. prasinus*, *S. palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii* ou aparecendo independentemente em *S. pauloalvini* e *S. carneus*. Sendo a utilização de bromélias em *Sphaenorhynchus* facultativa (polimórfico para 166.1 e 166.2) (Figura 3).



**Figura 3** – Árvore de máxima parcimônia. Sítio de oviposição sob o contexto em que *Sphaenorhynchus planicola* deposita os ovos na água. Taxa e ramos em verde, azul e vermelho indicam os estados: folhas (166.0); fitotelmata (166.1) e poças ou rios (166.2), respectivamente. Taxa e ramos em preto indicam "desconhecido". Táxon e ramos em cinza indicam "ambiguidade". [1,2] indica fitotelmata (166.1) e poças ou rios (166.2).

## CONCLUSÕES

- A monofilia de *Sphaenorhynchus* foi corroborada por 24 sinapomorfias fenotípicas e 62 genotípicas e um valor de suporte de Goodman-Bremer (GB) de 20.
- Dentre as sinapomorfias propostas por Duellman e Wiens (1992) se confirmaram: comprimento do ramo zigomático do esquamosal, curto, com comprimento de 2.2x a 2.4x a largura mínima do ramo ventral (26.1); formato da *pars externa plectri* completamente expandida (50.2) e; *pars externa plectri* entrando posterodorsalmente ao *annulus* timpânico (51.1). Além do peritônio parietal branco (164.1), sugerida por Haddad e Faivovich (com. pessoal em Faivovich et al., 2005) e; o elemento suplementar apical presente (149.1) sugerida por Faivovich et al. (2005).
- Cinco novas sinapomorfias únicas foram propostas para o gênero: formato do nasal redondo, com a margem anterior estendida diagonalmente em direção ao *planum terminale* (2.1); porção articular do quadrado não mineralizada (24.0); formato do ramo ótico do esquamosal quadrado (28.1); formato da cartilagem alar retangular (60.0) e; formato das margens internas dos orifícios nasais valvular (135.1).
- *Sphaenorhynchus pauloalvini* foi espécie irmã de todas as outras espécies de *Sphaenorhynchus*.
- O clado composto pelas espécies de *Sphaenorhynchus* menos *S. pauloalvini* foi delimitado por 20 sinapomorfias fenotípicas e suporte de GB 17. Em meio a estas, algumas sinapomorfias foram sugeridas por Duellman e Wiens (1992) anteriormente para o gênero. São como segue: *pars facialis* com altura correspondente a 1x - 1.2x a altura da *pars dentalis* da maxila (13.0); maxila posteriormente reduzida que quase alcança ou alcança a metade da órbita (14.0); ramo posterior do pterigóide extremamente reduzido (31.0); palatinos cobrindo somente  $\frac{3}{4}$  do *planum anterorbitale* (42.1) e; processos transversos da pré sacral IV alongados (95.2). Para este clado oito novas sinapomorfias são sugeridas: porção médio distal do ramo posterior do pterigóide direcionada posteriormente (30.1); anel timpânico profundo e expandido internamente, a superfície medial é inusualmente côncava (49.1); porção proximal da *pars media plectri* simples (55.0); anguloespenial e dentário sem contato, a cartilagem de meckel está visivelmente descoberta (58.1); massas fibrosas condrificadas (82.1); músculo *petrohyoideus* anterior com uma camada de fibras sobre a placa hióide (158.1); extensão posterior da prega do músculo *interhyoideus* alcançando a margem posterior do músculo *pectoralis esternalis* (152.4); músculo

*hyoglossus* com origem no início do terço posterior do processo posteromedial (156.0) e; músculo *petrohyoideus* anterior com uma camada de fibras sobre a placa hióide (158.1).

- O clado formado pelas espécies *Sphaenorhynchus palustris*, *S. bromelicola*, *S. orophilus*, *S. surdus* e *S. caramaschii* é suportado por (Goodman-Bremer 7) sete sinapomorfias fenotípicas. Porém, o relacionamento entre elas não é definido na análise de evidência total (Análise 4).
- Em futuras análises, os seguintes passos são recomendados: (1) adicionar grupos externos até que as otimizações dos caracteres em *Sphaenorhynchus* tornem-se insensíveis a este procedimento, pois apesar da topologia não ter sido modificada pela inclusão de mais taxa (Análise 4), as otimizações das séries de transformação foram alteradas (Quadro 1); (2) incluir as espécies *Sphaenorhynchus botocudo* e *S. mirim*; (3) obter sequências para *S. carneus*, *S. palustris* e *S. bromelicola*, como também para *S. botocudo* e *S. mirim*. Tanto a inclusão dos taxa *S. botocudo* e *S. mirim*, como a obtenção de sequências para *S. bromelicola* e *S. palustris* são importantes para a compreensão da evolução da pedomorfose dentro de *Sphaenorhynchus* e; (4) codificar dados fenotípicos para *Trachycephalus venulosus*. Pois, por consequência da posição filogenética ocupada por este táxon as otimizações de alguns caracteres tornaram-se ambíguas, e.g., expansão das diapófises sacrais (caráter 100).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar-Jr, O., Bacci Jr, M., Lima, A. P., Rossa-Feres, D. C., Haddad, C. F. B., Recco-Pimentel, S. M. 2007. Phylogenetic relationships from mitochondrial and nuclear gene sequences. *Cladistics*, 23: 1-9.
- Alves, A. C. R., Carvalho e Silva, S.P. 2002. Descriptions of the tadpoles of *Scinax alter* and *Scinax cuspidatus*. *Journal of Herpetology* 36: 133–137.
- Alves, A. C. R., Gomes, M. D. R, Carvalho e Silva, S. P. 2004. Description of the tadpole of *Scinax auratus* (Wied-Neuwied) (Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 21: 315–317.
- Barg, M. V. 2003. Osteología y Relaciones Filogenéticas de los Anuros Neobatracios del género *Pseudis*. Dissertação de Doutorado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Buenos Aires.
- Barrio, A. 1965. Cloricia Fisiologica em Batrachios Anuros. *Physis*. XXV, 69:137-142.
- Barrio-Amorós, C. L., Pascual, A. D., Mueses-Cisneros, J. J., Infante, E., Chacón, A. 2006. *Hyla vigilans* Solano, 1971, a second species for the genus *Scarthyia*, redescription and distribution in Venezuela and Colombia. *Zootaxa*, 1349: 1-18.
- Bokermann, W. C. A. 1966a. Duas Novas Espécies de “*Sphaenorhynchus*” (Amphibia, Hylidae). *Rev. Brasil. Biol.* 26(1): 15-21.
- Bokermann, W. C. A. 1966b. O gênero *Phyllodytes* Wagler, 1830 (Anura, Hylidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 38: 335-344.
- Bokermann, W. C. A. 1973. Duas novas espécies de "*Sphaenorhynchus*" da Bahia (Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, Rio de Janeiro, 33 (4): 589-594.
- Bokermann, W. C. A. 1974. Observações sobre Desenvolvimento Precoce em *Sphaenorhynchus bromelicola* Bok, 1966 (Anura, Hylidae). *Rev. Brasil. Biol.* 36(1): 33-41.
- Born, G. 1876. Ueber die Nasenhohlen und den Tranennasengang der Amphibien. *Morph. Jb.*, 2: 577-646.
- Braun, E. L., Kimball, R. T. 2002. Examining basal avian divergences with mitochondrial sequences: model complexity, taxon sampling, and sequence length. *Syst. Biol.* 51, 614-625.
- Bremer, K., 1994. Branch support and tree stability. *Cladistics*, 10: 295–304.
- Burton, T.C., 1996. Adaptation and evolution in the hand muscles of Australo-Papuan Hylid frogs (Anura: Hylidae: Pelodyadinae). *Aust. J. Zool.* 44, 611–623.
- Burton, T. C. 1998. Variation in the Hand and Superficial Throat Musculature of Neotropical Leptodactylid Frogs. *Herpetologica*, 54: 53-72.

- Cannatella, D. C. 1980. A review of the *Phyllomedusa buckleyi* group (Anura: Hylidae). Occasional Papers of the Museum of Natural History, The University of Kansas 87: 1-40
- Caramaschi, U. 1998. Description of a second species of the genus *Xenohyla* (Anura: Hylidae). *Amphibia-Reptilia* 19: 377-384.
- Caramaschi, U., Almeida, A. P., Gasparini, J. L. 2009. Description of two new species of *Sphaenorhynchus* (Anura, Hylidae). *Zootaxa* 2115:34-46.
- Carvalho-e-Silva, A. M. P. T., Carvalho-e-Silva, S. P. 2005. New Species of the *Hyla albofrenata* Group, from the States of Rio de Janeiro and Sao Paulo, Brazil (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* 39 (1), 73-81.
- Chang, J. 1996. Inconsistency of evolutionary tree topology reconstruction methods when substitution rates vary across characters. *Mathematical Biosciences* 134: 189–215.
- Cisneros-Heredia, M. 2007. Revision of the characters of Centrolenidae (Amphibia: Anura: Athesphatanura), with comments on its taxonomy and the description of new taxa of glassfrogs. *Zootaxa*. 1-82
- Cruz, C. A. G. 1973. Observações sobre o girino de *Sphaenorhynchus planicola* (Lutz & Lutz, 1938) (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos de Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro* 3:83-86.
- Cruz, C. A. G., Peixoto, O. L. 1980. Notas sobre o girino de *Sphaenorhynchus orophilus* (Lutz & Lutz, 1938) (Amphibia, Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia* 40:383-386.
- Dalevi, D., Hugenholtz, P., Blackall, L. L. (2001). A multiple-outgroup approach to resolving division-level phylogenetic relationships using 16S rDNA data. *Int J Syst Evol Microbiol* 51, 385–391
- Darst, C. R., Cannatella, D. C. 2004. Novel relationships among hyloid frogs inferred from 12S and 16S mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31: 462-475.
- Da Silva, H. R. 1998. Phylogenetic Relationships of the Family Hylidae with Emphasis on the Relationships within the Subfamily Hyliinae (Amphibia: Anura). Dissertação Ph.D. Departamento de Sistemática e Ecologia, Universidade do Kansas.
- De Sá, R.O., Lavilla E.O. 1997. The tadpole of *Pseudis minuta* (Anura:seuididae), an apparent case of heterochrony. *Amphibia-Reptilia* 18: 229–240.
- Downie JR, Sams K, Walsh PT. 2009. The paradoxical frog *Pseudis paradoxa*: Larval anatomical characteristics, including gonadal maturation. *Herpetol J* 19:1–10.
- Duellman, W. E. 1970. The Hylid Frogs of Middle America. Monograph of the Museum of Natural History, The University of Kansas, 1: 1-753 (2 vols).
- Duellman, W. E. 1973. Frogs of the *Hyla geographica* group. *Copeia*, 1973, 515-533.
- Duellman, W. E. 1978. The biology of an Equatorial herpetofauna in Amazonian Ecuador. *Miscellaneous Publications of the Museum of Natural History of the University of Kansas* 65:1–352.

- Duellman, W. E. 2001. *Hylid Frogs of Middle America*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles.
- Duellman, W. E., Campbell, J. A. 1992. Hylid frogs of the genus *Plectrohyla*: systematics and phylogenetic relationships. *Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Michigan* 181, 32.
- Duellman, W. E., De Sá, R.O. 1988. A new genus and species of South American hylid frog with a highly modified tadpole. *Tropical Zoology* 1: 117–136.
- Duellman, W.E., Trueb, L.. 1983. Frogs of the *Hyla columbiana* group: taxonomy and Phylogenetic relationships. *In* A.G.J. Rhodin and K. Miyata (editors), *Advances in herpetology and evolutionary biology*: 33–51. Cambridge, MA: Museum of Comparative Zoology, Harvard University.
- Duellman, W. E., Trueb, L., 1986. *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill, New York.
- Duellman, W. E., Wiens, J.J. 1992. The status of the hylid frog genus *Ololygon* and the recognition of *Scinax* Wagler, 1830. *Occasional Papers of the Museum of Natural History, University of Kansas*. 15:1–23
- Echeverria, D. D. 1997. Microanatomy of the buccal apparatus and oral cavity of *Hyla minuta* Peters, 1872 larvae (Anura, Hylidae), with data on feeding habits. *Alytes* 15: 26–36.
- Fabrezi, M. 1992. El carpo de los anuros. *Alytes*. 10:1-29.
- Fabrezi, M. 1993. The anurans tarsus. *Alytes*. 11 (2): 46-63.
- Fabrezi, M., Alberch, P. 1996. The carpal elements of anurans. *Herpetologica*. 52: 188 – 204.
- Fabrezi, M. 2001. Variación Morfológica de La Dentición em Anuros. *Cuad.Herpetol.*, 15 (1): 17-28.
- Fabrezi, M., Quinzio, S. I. 2008. Morphological evolution in Ceratophyinae frogs (Anura. Neobatrachia): The effects of heterochronic changes during larval development and metamorphosis. *Zool J Linn Soc* 154:752–780.
- Fabrezi, M., Quinzio, S. I., Goldberg. 2010. The Ontogeny of *Pseudis platensis* (Anura, Hylidae): Heterochrony and the Effects of Larval Development on Postmetamorphic Life. *Journal of Herpetology*. 271(4):496-510.
- Faivovich, J. 2002. A cladistic analysis of *Scinax* (Anura: Hylidae). *Cladistics* 18: 367–393.
- Faivovich, F., Garcia, P. C. A., Ananias, F., Lanari, L., Basso, N. G., Wheeler, W. C. 2004. A molecular perspective on the phylogeny of the *Hyla pulchella* species group (Anura, Hylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32: 938–950.
- Faivovich, F., Haddad, C. F. B, Garcia, P. C. A., Frost, D. R., Campbell J. A., Wheeler, W. C. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylineae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of The American Museum of Natural History, New York, NY*, 294, 240 pp.
- Farris, J. S. 1972. Estimating phylogenetic trees from distance matrices. *The American Naturalist* 106:645–668.

- Farris, J. S. 1982. Outgroups and parsimony. *Systematic Zoology* 31:328–334.
- Farris, J. S. 1999. Likelihood and inconsistency. *Cladistics*. 15: 199–204.
- Felsenstein, J. 1978. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. *Syst. Zool.* 27:401–410.
- Fouquette, M. J., Delahoussaye, A.J. 1977. Sperm morphology in the *Hyla rubra* group (Amphibia, Anura, Hylidae), and its bearing on generic status. *Journal of Herpetology* 11: 387-396.
- Frost, D. R. 2010. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 4 (18 February 2010). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Garcia, P. C. A. 2003. Revisão taxonômica e análise filogenética das espécies do gênero *Hyla* Laurenti do complexo *marginata/semiguttata* (Amphibia, Anura, Hylidae). Dissertação de doutorado, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- Garda, A. A., Cannatella, D. C. 2007. Phylogeny and biogeography of paradoxical frogs (Anura, Hylidae, Pseudae) inferred from 12S and 16 S mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44: 104-114.
- Goebel, A.M., Donnelly J.M., Atz, M.E. 1999. PCR primers and amplification methods for 12S ribosomal DNA, the control region, cytochrome oxidase 1, and cytochrome b in bufonids and other frogs, and an overview of PCR primers which have amplified DNA in amphibians successfully. *Molecular Phylogenetic Evolutions*, 11:163– 199.
- Goloboff, P.A., 1998. NONA, Version 2.0. Computer program and documentation. Distributed by the author. Tucuman, Argentina.
- Goloboff, P. A., Farris J. S., Nixon K. 2003. TNT: Tree analysis using New Technology. Version 1.0. Ver. Beta test v. 0.2. Program and documentation available at <http://www.zmuc.dk/public/phylogeny/TNT/>
- Gould SJ. 1977. *Ontogeny and Phylogeny*. Cambridge: The Belknap Press of Harvard University Press. 501 p.
- Graham, S. W., Iles, W. J. D. 2009. Different gymnosperm outgroups have (mostly) congruent signal regarding the root of flowering plant phylogeny. *Am. J. Bot.* 96, 216-227.
- Grant, T. Outgroup sampling criteria: Severity, expansion, and the phylogeny of marsupial frogs.
- Grant, T., Kluge, A. G. 2003. Data exploration in phylogenetic inference: Scientific, heuristic, or neither. *Cladistics*, 19: 379–418.
- Grant, T., Kluge, A.G. 2004. Transformation series as an ideographic character concept. *Cladistics*, 20: 23–31.

- Grant, T., Kluge, A. G. 2007. Ratio of explanatory power (REP): a new measure of group support. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44: 483-487.
- Grant, T., Kluge, A. G. 2008. Credit where credit is due: The Goodman-Bremer support metric. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Article in Press.
- Grant, T., Kluge, A.G. 2009. Perspective Parsimony, explanatory power, and dynamic homology testing. *Systematics and Biodiversity*, 7 (4): 357-363.
- Grant, T., D. R. Frost, J. P. Caldwell, R. Gagliardo, C. F. B. Haddad, P. J. R. Kok, B. D. Means, B. P. Noonan, W. Schargel, and W. C. Wheeler. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Anura: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 299: 1-262
- Haas, A. 2003. Phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters (Amphibia: Anura). *Cladistics*, 19: 23–89.
- Haddad, C. F. B., Prado, C. P. A. 2005. Reproductive Modes in Frogs and Their Unexpected Diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *Bioscience*, 55 :207 217.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.
- Harding, K. A. 1991. The taxonomic status of *Hyalopsis platycephalus* Werner, 1894 and *Centronella* Noble, 1920 (Amphibia: Anura). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 103: 413-418.
- Hawkins, J.A., Hughes, C.E., Scotland, R.W., 1997. Primary homology assessment, characters and character states. *Cladistics* 13, 275– 283.
- Heyer, R.W. 1980. The calls and taxonomic position of *Hyla giesleri* and *Ololygon opalina* (Amphibia, Anura, Hylidae). *Proceedings of the biological society of Washington*, 93 (3): 655–661.
- Heyer, W.R., Rand, A.S., Cruz, C.A., Peixoto, G O.L., Nelson, C.E. 1990. Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia* 31: 231–410.
- Hödl, W. 1977. Call differences and calling site segregation in anuran species from Central Amazonian floating meadows. *Oecologia*, 28:351-363.
- Izecksohn, E. (1998 “1996”). Novo gênero de Hylidae brasileiro (Amphibia, Anura). *Revista de Universidade Rural, Serie Ciências da Vida* 18: 47–52.
- Jarvik, E. 1942. On the Structure of Snout of Crossopterygians and Lower Gnathostomes in General. *Zool. Bird. Uppsala*, 21: 235-675.
- Jurgens, J. D. 1971. The morphology of the nasal region of amphibia and its bearing on the phylogeny of the group. *Annale Universiteit Van Stellenbosch* 46 (2), 1-146.
- Lugli, L., Haddad, C. F. 2006. New species of *Bokermannohyla* (Anura, Hylidae) from Central Bahia, Brazil. *Journal of Herpetology* 40 (1), 7-15.
- Kenny, J. S. 1969. The Amphibia of Trinidad. *Studies Fauna Curaçao and other Caribbean Islands*. 108:1-78.

- Kluge, A.G. 1989. A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology*, 38: 7–25.
- Liem, S. S. 1970. The morphology, systematics and evolution of the Old World tree frogs (Rhacophoridae and Hyperoliidae). *Fieldiana Zool.* 57:1-145.
- Lynch, J.D., Duellman, W. E. 1997. Frogs of the Genus *Eleutherodactylus* in Western Ecuador. Systematics, Ecology, and Biogeography. Natural History Museum. The University of Kansas. Lawrence, Kansas.
- Lynch, J. D., Ruiz-Carranza, P. M. 1996. A remarkable new centrolenid frog from Colombia with a review of nuptial excrescences in the family. *Herpetologica*, 52 (4), 525–535.
- Maddison, W. P., Maddison, D.R. 2008. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, version 2.5. Disponível em: <http://mesquiteproject.org> [acessado em 15 de Maio de 2008].
- Maglia, A. M., Pugener, Mueller, L. A., J. M. 2007. Skeletal Morphology and Postmetamorphic Ontogeny of *Acris crepitans* (Anura: Hylidae): A Case of Miniaturization in Frogs. *Journal of Morphology*, ??: 1-30.
- Manzano, A. S., Fabrezi, M., Vences, M. 2007. Intercalary Elements, Treefrogs, and the Early Differentiation of a Complex System in the Neobatrachia. *The Anatomical Record*, 290: 1551-1567.
- McDiarmid, R.W., Altig, R. 1990. Description of a bufonid tadpole and two hylid tadpoles from western Ecuador. *Alytes* 8: 51–60.
- Mendelson III, J. R. Da Silva, H. R., Maglia, A. M. 2000. Phylogenetic relationships among marsupial frog genera (Anura: Hylidae: Hemiphractinae) based on evidence from morphology and natural history. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 128: 125–148.
- Mijares-Urrutia, A., Manzanilla-Puppo J., La Marca, E. 1999. Una nueva especie de *Tepuihyla* (Anura: Hylidae) del noroeste de Venezuela, con comentarios sobre su biogeografía. *Revista de Biología Tropical* 47: 1099–1110.
- Myers, C.W., Duellman, W. E. 1982. A new species of *Hyla* from Cerro Colorado, and other tree frog records and geographical notes from western Panama. *American Museum Novitates*, 2752: 1–32.
- Nunes, I., Fusinato, L. A., Cruz, C. A. G. 2007. The Tadpole and Advertisement call of *Sphaenorhynchus palustris* Bokermann, 1966 (Amphibia, Anura, Hylidae). *South American Journal of Herpetology*, 2 (2): 123-128.
- Parmalee, J.R. 1999. Trophic ecology of a tropical anuran assemblage. *Scientific Papers of the Natural History Museum, The University of Kansas* 11: 1–59.
- Peters, J.A. 1964. *Dictionary of Herpetology: A Brief and Meaningful Definition of Words and Terms Used in Herpetology*. Hafner Publishing Company, New York.
- Phillipe, H., E. A. Snell, E. Baptiste, P. Lopez, P.W. H. Holland, and D. Casane. 2004. Phylogenomics of eukaryotes: Impact of missing data on large alignments. *Mol. Biol. Evol.* 21:1740–1752.

- Pol, D., Siddall, M. E. 2001. Biases in maximum likelihood and parsimony: a simulation approach to a 10-taxon case. *Cladistics*, 17:266–281.
- Puslednik, L., Serb, J. M. 2008. Molecular phylogenetics of the Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) and effect of increased taxon sampling and outgroup selection on tree topology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48: 1178-1188.
- Reilly, S. M., Wiley, E. O., Meinhardt, D, J. 1997. An integrative approach to heterochrony: the distinction between interspecific and intraspecific phenomena. *Biological Journal of the Linnean Society* 60: 119–143.
- Rodriguez, L. O., Duellman, W.E. 1994. Guide to the frogs of the Iquitos region, Amazonian Peru. The University of Kansas Natural History Museum Special Publication 22: i–ii,1–80.
- Ruiz-Caranza, P. M., Lynch, J. D. 1982. Dos nuevas especies de *Hyla* (Amphibia: Anura) de Colombia, con aportes al conocimiento de *Hyla bogotensis*. *Caldasia* 13,647-671.
- Savage, J. M., Heyer, W. R. 1967. Variation and distribution in the tree-frog genus *Phyllomedusa* in Costa Rica, Central America. *Beiträge zur Neotropischen Fauna*, 5: 111–131.
- Scott, E. 2005. A Phylogeny of Ranid Frogs (Anura: Ranoidea: Ranidae), Based on Simultaneous Analysis of Morphological and Molecular Data. *Cladistics*, 21: 507-574.
- Siddall, M. E. 1998. Success of parsimony in the four-taxon case: long-branch repulsion by likelihood in the Farris zone. *Cladistics*, 14: 209–220.
- Silva, H. R., Britto- Pereira, M. C., Caramaschi, U. 1989. Frugivory and seed dispersal by *Hyla truncata* Neotropical treefrog. *Copeia*, 1989: 781-783.
- Spaulding, M., O'Leary, M. A., Gatesy, J. 2009. Relationships of Cetacea (Artiodactyla) among mammals: Increased taxon sampling alters interpretations of key fossils and character Evolution. *PLoS ONE* 4, e7062. doi:10.1371/journal.pone.0007062.
- Steel, M. A., Hendy, M. D., Penny, D. 1993. Parsimony can be consistent! *Systematic Biology*. 42: 581–587.
- Steel, M. L., Szekely, L., Hendy, M. 1994. Reconstructing trees from sequences whose sites evolve at variable rates. *Journal of Comparative Biology*. 1: 153–163.
- Strong, E.E., Lipscomb, D.L., 1999. Character coding and inapplicable data. *Cladistics* 15, 363–371.
- Suarez-Mayorga, A. M., Lynch, J. D. 2001. Los renacuajos colombianos de *Sphaenorhynchus* (Hylidae): descripciones, anotaciones sistematicas y ecologicas. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 25: 411–420.
- Taylor, W. R., Van Dyke, G. C. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybio* 9:107–119.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25:4876-4882.

- Trewavas, E. 1993. The Hyoid and Larynx of the Anura. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 222: 401-527.
- Trueb, L. 1970. Evolutionary relationships of casque-headed tree frogs with coossified skulls (family Hylidae). *Occas. Pap. Mus. Nat. Hist. Univ. Kansas*. 18: 547-716.
- Trueb, L. 1973. Bones, frogs, and evolution. In (Eds.), In: J.L. Vial (Ed.), *Evolutionary Biology of the Anurans: Contemporary Research on Major Problems* Univ. of Missouri Press, Columbia, pp. 65-132.
- Trueb, L. 1993. Patterns of cranial diversification among the Lissamphibia. In J. Hanken, and B.K. Hall (Eds), *The skull*, University of Chicago Press, Chicago, pp. 255–343.
- Tyler, M. J. 1971. The phylogenetic significance of vocal sac structure in hylid frogs. *Occasional Papers of the Museum of Natural History, The University of Kansas* 19: 319–360.
- Tyler, M. J., Davis, M. 1978. Species groups within the Australopapuan hylid frog genus *Litoria* Tschudi. *Austr. J. Zool., Suppl. Ser.* 63: 1-47.
- Tyson, H. 1987. The structure and development of the anuran breast-shoulder apparatus, forelimb, and associated musculature. PhD Dissertation. Edmond: University of Alberta, Canada.
- Van Dijk, D. E., 1966. Systematics and field keys to the families, genera and described species of southern Africa anuran tadpoles. *Ann. Natal Mus.* 18 (2), 231–286.
- Vences, M., Glaw, F., Bohme, W. 1998. Evolutionary correlates of microphagy in alkaloid-containing frogs (Amphibia: Anura). *Zool. Anz.* 236, 217–230.
- Vera Candiotti, M.F. 2004. Morphology of premetamorphic larvae of *Lysapsus limellus* (Anura:Pseudinae). *Amphibia-Reptilia* 25: 41–54.
- Vera Candiotti, M.F., Lavilla, E.O., Echeverria, D.D. 2004. Feeding mechanism in two treefrogs, *Hyla nana* and *Scinax nasicus* (Anura:Hylidae). *Journal of Morphology* 261: 206–224.
- Yang, Z. 1997. How often do frog models produce better phylogenies? *Molecular Biology and Evolution* 14: 105–108.
- Zweifel, R. G. 1964. Life History of *Phrynohyas venulosa* (Salientia: Hylidae) in Panama. *Copeia* (1): 201-208.
- Wassersug, R. 1980. Internal oral features of larvae from eight anuran families: functional, systematic, evolutionary and ecological considerations. *Miscellaneous Publications of the Museum of Natural History, University of Kansas* 68: 1–146.
- Wever, E. G. 1985. *The Amphibian Ear*. Princeton, New Jersey: Princeton Univ.Press.
- Wheeler, W. C., Gladstein, D. S., Laet, J. D. 1996–2003. POY, 3.0.11 edition, 2006–2008. [ftp.amnh.org/pub/molecular/poy](http://ftp.amnh.org/pub/molecular/poy) (current version 3.0.11). Documentation by D. Janies and W. Wheeler. Commandline Documentation by J. De Laet and. W. C. Wheeler.

- Wheeler, W. C., 2001. Homology and the optimization of DNA sequence data. *Cladistics* 17: 3-11.
- Wheeler, W. C., Aagesen L., Arango, C.P; Faivovich, J., Grant, T., D'haese, C.; Janies D.A., Smith, W.L., Varon, A., Giribet, G. 2006. *Dynamic Homology and Phylogenetic Systematics: A Unified Approach Using POY*. American Museum of Natural History, New York. ISBN 0-913424-58-7.)
- Wiens, J. J. 2003. Missing data, incomplete taxa, and phylogenetic accuracy. *Syst. Biol.* 52:528–538.
- Wiens, J. J., Fetzner, J. W., Parkinson, C. L., Reeder, T. W. 2005. Hylid frog phylogeny and sampling strategies for speciose clades. *Systematic Biology* 54: 719–748.
- Wiens, J. J., Graham, C. H., Moen, D. S., Smith, S. A., Reeder, T. W. 2006. Evolutionary and Ecological Causes of the Latitudinal Diversity Gradient in Hylid Frogs: Treefrog Trees Unearth the Roots of High Tropical Diversity. *The American Naturalist*, 168 (5): 579-596.

**Referências elaboradas segundo orientações da  
Revista *Cladistics*.**