

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA**

Eduarda Melo de Abreu Vieira

**DESCRIÇÃO CARIOTÍPICA E ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE ADULTOS E
LARVAS DE *Cycloramphus bandeirensis* HEYER, 1983 (ANURA:
CYCLORAMPHIDAE)**

Belo Horizonte

2023

Eduarda Melo de Abreu Vieira

**DESCRIÇÃO CARIOTÍPICA E ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE ADULTOS E
LARVAS DE *Cycloramphus bandeirensis* HEYER, 1983 (ANURA:
CYCLORAMPHIDAE)**

Versão final

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Orientador: Paulo Christiano de Anchieta Garcia

Coorientador: Renato Neves Feio

Belo Horizonte
2023

043

Vieira, Eduarda Melo de Abreu.

Descrição cariotípica e aspectos morfológicos de adultos e larvas de *Cycloramphus bandeirensis* Heyer, 1983 (Anura: Cycloramphidae) [manuscrito] / Eduarda Melo de Abreu Vieira. – 2023.

86 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Paulo Christiano de Anchieta Garcia. Coorientador: Renato Neves Feio.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Zoologia.

1. Zoologia. 2. Citogenética. 3. Taxonomia. 4. Anuros. I. Garcia, Paulo Christiano de Anchieta. II. Feio, Renato Neves. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 591



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

EDUARDA MELO DE ABREU VIEIRA

Ao vigésimo quarto dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e três, às nove horas, ocorreu a defesa de Mestrado da Pós-Graduação em Zoologia, de autoria da Mestranda Eduarda Melo de Abreu Vieira intitulada: “Descrição Cariotípica e Aspectos Morfológicos de Adultos de Larvas de *Cycloramphus bandeirensis* Heyer, 1983 (Anura: Cycloramphidae)”. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Dr. Paulo Christiano de Anchieta Garcia, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra para a candidata para apresentação de seu trabalho.

Esteve presente a Banca Examinadora composta pelos membros: Camila Moura Novaes, Rachel Montesinos Martins Pereira, e demais convidados. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata.

Após a arguição, apenas os Srs. Examinadores permaneceram na sala para avaliação e deliberação acerca do resultado final, a saber: o trabalho foi APROVADO SEM ALTERAÇÕES.

Nada mais havendo a tratar, o Presidente da Comissão encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Camila Moura Novaes, Usuária Externa**, em 27/02/2023, às 11:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rachel Montesinos Martins Pereira, Usuário Externo**, em 27/02/2023, às 14:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Christiano de Anchieta Garcia, Usuário Externo**, em 27/02/2023, às 16:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2103581** e o código CRC **A9C5652C**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Descrição Cariotípica e Aspectos Morfológicos de Adultos de Larvas de *Cycloramphus bandeirensis* Heyer, 1983 (Anura: Cycloramphidae)

EDUARDA MELO DE ABREU VIEIRA

Esta dissertação foi apresentada em sessão pública e submetida a avaliação em 24 de fevereiro de 2023, tendo sido aprovada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Camila de Moura Novaes

Membro - UFV

Paulo Christiano de Anchieta Garcia

Orientador - UFSC

Rachel Montesinos Martins Pereira

Membro - UFMG



Documento assinado eletronicamente por **Camila Moura Novaes**, Usuária Externa, em 27/02/2023, às 11:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rachel Montesinos Martins Pereira**, Usuário Externo, em 27/02/2023, às 14:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Christiano de Anchieta Garcia**, Usuário Externo, em 27/02/2023, às 16:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 2103665 e o código CRC 16F11968.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Paulo Garcia**, pela oportunidade de realizar meu mestrado na **Pós-Graduação em Zoologia da Universidade Federal de Minas Gerais** ao aceitar me orientar e por topar embarcar neste trabalho. Agradeço pela confiança em mim depositada ao longo destes dois anos.

Ao meu coorientador, **Renato Feio**, pela primeira oportunidade dentro da herpetologia e por toda a parceria ao longo desses anos. Agradeço por deixar as portas do Museu e da Serra do Brigadeiro sempre abertas, além de sempre acalmar a gente com sua tranquilidade. Não é todo professor que, faça chuva ou faça sol, topa subir o Caparaó três vezes atrás do mesmo bicho, e sou muito grata por isso.

A todos do **Laboratório de Herpetologia da UFMG**, em especial **Babi, Brenda e Gaby**, os grandes presentes que o mestrado me deu. Meninas, vocês foram fundamentais nessa etapa da minha vida. Vocês são pessoas incríveis que tive a oportunidade de conhecer e que mesmo distante, sempre se fizeram presentes. Agradeço também ao **Tiago Pezzuti** pela paciência e ajuda com a dissecação de um girino tão pequenino. Sua ajuda foi essencial e sou muito grata!

A todos os amigos do **Museu de Zoologia João Moojen**, sempre disponíveis para jogar conversa fora, compartilhar os desesperos acadêmicos, além dos campos. Em especial ao **Marcelo**, por toda ajuda e ensinamentos durante meu início no museu, campos e parcerias, e à **Letícia** e ao **Heithor** que me ajudaram com as coletas.

À **Camila** e ao **Clodoaldo**, pessoas importantíssimas na base da minha formação como herpetóloga e futura citogeneticista. Sou muito grata por terem me acolhido no Museu, por todos os almoços e cafés, e por sempre ouvirem minhas lamúrias.

À Professora **Denilce** e **Gisele**, por terem me recebido tão bem no **Laboratório de Citogenética de Insetos**, por confiarem em mim e por terem me ensinado tanto. Sou extremamente grata por toda a paciência, pelo cuidado e por sempre vibrarem a cada resultado positivo de FISH.

Ao professor **Jorge Dergam** por abrir as portas do Beagle e permitir que eu realizasse minhas análises citogenéticas nesse espaço.

Ao professor **Daniel Bruschi** por prontamente disponibilizar o protocolo utilizado em seu laboratório para FISH com anfíbios.

À **Cíntia Targueta** por toda a ajuda com protocolos, dúvidas e por sempre ter sido tão solícita quando precisei, mesmo de longe.

Aos professores curadores das coleções científicas visitadas durante a realização desse trabalho, **José Pombal Jr.** e **Taran Grant**, por terem permitido o acesso aos exemplares, em especial aos holótipos.

A todos os meus amigos, com destaque para **Cecília, Heithor, Luana e Pedro**, por me ajudarem a passar por essa etapa, compartilhando os momentos de alegria, felicidade e também de desesperos.

À **Gabi** e ao **Júlio**, por sempre estarem presentes. Definitivamente essa fase não seria a mesma coisa sem vocês, mas isso vai muito além do mestrado e vocês sabem disso. Obrigada por todos os conselhos, ideias, apoio e por toda ajuda com tudo.

Por último, mas não menos importante, à minha família. Sem vocês, nada disso seria possível. Sou muito grata pelo privilégio que tive de poder estudar fora e fazer o curso que sempre quis. Não é toda família que entende a filha resolver trabalhar com sapo. Sei o quanto vocês batalharam para poder me oferecer toda a educação que eu tive. Agradeço imensamente meus pais, **José Eduardo e Laura**, minhas irmãs **Paula e Júlia**, e meu cunhado/irmão **Bruno** por tudo que fizeram e fazem por mim, por todo amor, carinho, apoio e confiança durante toda minha vida. Vocês são minhas maiores inspirações e sou muito grata pela criação que tive. Ao **João**, meu noivo, que esteve comigo em todos os momentos, mesmo que por muitas vezes de longe por conta das longas e intermináveis viagens de consultoria. Obrigada pelo apoio incondicional, por me ajudar tanto e por todo o cuidado. Amo muito todos vocês e não existem palavras no mundo para expressar toda minha gratidão.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela bolsa recebida, indispensável para a realização deste trabalho.

RESUMO

O gênero *Cycloramphus* pertence à família Cycloramphidae e possui 30 espécies endêmicas da Mata Atlântica. Dados a respeito da história natural deste gênero são escassos, e o girino de apenas 12 foi descrito, o canto de 13 é conhecido e o cariótipo de 12 espécies foi estudado. *C. bandeirensis* passou muitos anos com uma lacuna de informações sobre seu canto e modo reprodutivo que somente recentemente foi preenchida. Entretanto, informações básicas sobre sua morfometria e morfologia, além da morfologia oral interna dos girinos ainda são desconhecidas, sendo estas fontes importantes de caracteres. Não só isso, mas o cariótipo da espécie também nunca foi descrito, e a obtenção destes dados é importante para a compreensão da história evolutiva cariotípica do grupo. Desta forma, este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização morfológica, morfométrica e cromática de juvenis e adultos de *Cycloramphus bandeirensis*, bem como descrever a morfologia oral interna de sua larva e fornecer a primeira descrição cariotípica. Após a recharacterização do holótipo e análise morfológica e morfométrica dos adultos, os caracteres da descrição original foram atualizados, além de novos sendo disponibilizados, propondo-se uma nova diagnose para *C. bandeirensis*, facilitando a comparação entre as espécies. Também foram descritas as variações entre juvenis e adultos, e machos e fêmeas. Uma nova chave taxonômica interativa com novos caracteres foi disponibilizada, incluindo espécies recém descritas. Em relação aos dados citogenéticos, o cariótipo da espécie apresentou $2n = 26$ cromossomos, com marcações centroméricas de heterocromatina constitutiva e terminais para os microssatélites (GA)₁₅ e (TTAGGG)_n. Os dados obtidos neste trabalho permitem uma melhor delimitação específica e uma melhor comparação com as demais espécies do gênero, evitando futuros problemas taxonômicos, além de contribuir para a compreensão da evolução dos cariótipos do grupo.

Palavras chave: Citogenética. Taxonomia. Anura.

ABSTRACT

The genus *Cycloramphus* belongs to the Cycloramphidae family and has 30 described species, endemic to the Atlantic Forest. Data regarding the natural history of this clade is scarce, and the tadpole of just 12 species has been described, the call of 13 is known and the karyotype of 12 species has been studied. For many years, information about the call and reproductive mode of *C. bandeirensis* was unknown, with this gap being filled only recently. However, basic data about its morphometrical and morphological characters, besides internal oral larvae morphology are obscure, with those being an important source of information. Nevertheless, the karyotype has also never been described, and the acquisition of this data is essential to a better comprehension of the evolutionary karyotypical history of the group. With this being said, the main goal of this work was to provide a morphometric, morphological and chromatic characterization of juveniles and adults of *Cycloramphus bandeirensis*, as well as to describe its internal oral tadpole morphology and karyotype. After the recharacterization of the holotype and morphometric and morphological analysis of adults, the characters from the original description were updated and new ones were provided, proposing a new diagnosis for *C. bandeirensis*. The variation between juveniles and adults, as well as among males and females was also discussed. A new interactive identification key was created, with new characters and for all 30 species of the genus. Concerning the cytogenetic data, females and males presented $2n = 26$ chromosomes, with centromeric C-banding staining and terminal signals of $(GA)_{15}$ and $(TTAGGG)_n$ microsatellites. The new data herein obtained allows a better species-specific delimitation and a better comparison among the species of the genus, avoiding future taxonomic problems, besides contributing to the evolutionary understanding of the changes on the karyotype of the group.

Keywords: Cytogenetics. Taxonomy. Anura.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO GERAL	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Morfologia	16
3.1.1 Exemplos de coleção.....	16
3.1.2 Coleta de espécimes	16
3.1.3 Caracterização morfológica – juvenis e adultos	16
3.2 Análise dos girinos	17
3.3 Obtenção de imagens dos exemplares	17
3.4 Chave taxonômica interativa	18
3.5 Análises citogenéticas	18
3.5.1 Obtenção dos cromossomos metafásicos	18
3.5.2 Preparo das lâminas	19
3.5.3 Preparação das sondas de rDNA 18S e telomérica (TTAGGG) _n	20
3.5.4 Hibridização <i>in situ</i> Fluorescente (FISH).....	22
3.5.5 Análise cromossômica	22
4. RESULTADOS.....	22
4.1 Morfologia	22
4.1.1 Recaracterização do holótipo	22
4.1.2 Coloração do holótipo	23
4.1.3 Caracterização morfológica dos adultos (N= 4 fêmeas, N = 13 machos) e variações.....	24
4.1.4 Coloração em vida.....	36
4.1.5 Coloração em meio preservativo.....	40
4.1.6 Variações ontogenéticas	40
4.1.7 Dimorfismo sexual.....	40
4.1.8 Nova diagnose para <i>Cycloramphus bandeirensis</i>	41
4.1.9 Comparação com outras espécies de <i>Cycloramphus</i>	41
4.2 Chave taxonômica interativa para o gênero <i>Cycloramphus</i>	42
4.3 Girino	46
4.3.1 Morfologia oral interna.....	46
4.4 Citogenética	49
4.4.1 Citogenética clássica	49

4.4.2	Citogenética molecular – FISH	54
5.	DISCUSSÃO	54
5.1	Morfologia	54
5.2	Dimorfismo sexual	58
5.3	Variação no padrão de coloração	59
5.4	Chave taxonômica	62
5.5	Morfologia oral interna do girino.....	62
5.6	Citogenética	63
6.	CONCLUSÃO	70
7.	REFERÊNCIAS	71
S1.	MATERIAL SUPLEMENTAR	81

1. INTRODUÇÃO

Das mais de 1000 espécies de anfíbios anuros conhecidas no Brasil (Segalla et al., 2021), por volta de 600 ocorrem na Mata Atlântica, sendo quase 80% endêmicas desse bioma (Rossa-Feres et al., 2018). Entretanto, mesmo com essa expressiva diversidade, há várias espécies para as quais o conhecimento ainda é incipiente. Para muitas, apenas informações incompletas sobre história natural, morfologia, cariótipo e filogenia estão disponíveis.

Entre as espécies pouco conhecidas estão as do gênero *Cycloramphus* Tschudi, 1838, endêmicas do Brasil, pertencentes à família Cycloramphidae. O gênero possui 30 espécies (Frost, 2021; Dubois, Ohler & Pyron, 2021, Segalla et al., 2021) de hábitos especializados e com distribuição restrita à Mata Atlântica (Heyer, 1983). Esse táxon apresenta três modos reprodutivos distintos de acordo com o habitat no qual as espécies são encontradas (Nunes-de-Almeida et al., 2021). As espécies que habitam a serrapilheira depositam seus ovos em troncos ou câmaras no solo e possuem girinos endotróficos (Heyer & Crombie, 1974; Zandomenico, Ferreira & Ferreira, 2014). Já as espécies associadas a riachos podem depositar seus ovos em ambientes úmidos como fendas ou embaixo de rochas, além de raízes de plantas, dando origem a girinos exotróficos (Giaretta & Cardoso, 1995; Verdade et al., 2019). Mesmo assim, dados a respeito da história natural de *Cycloramphus* são escassos, uma vez que o canto de somente 13 espécies é conhecido e o girino de apenas 12 foi descrito (Verdade et al., 2019; Dias et al., 2021).

Conhecer aspectos morfológicos e ecológicos dos girinos é importante para compreender o processo de metamorfose e a manutenção do ciclo de vida dos anfíbios (Wassersug, 1975), ampliando as informações disponíveis para o manejo e conservação das espécies. Os caracteres larvais podem elucidar ainda mais a história evolutiva de um grupo quando são associados de forma complementar aos caracteres dos adultos (Grosjean, 2005). Para a maioria dos girinos de *Cycloramphus* descritos, os trabalhos eram, na sua maioria, restritos a morfologia externa (Heyer & Crombie, 1979; Heyer, 1983a; Heyer, 1983b; Lima et al., 2010; Silva & Ouverney, 2012; Verdade et al., 2019; Dias et al., 2021). Dias e colaboradores (2021) forneceram novas informações acerca da morfologia externa e interna das larvas de 10 espécies de Cycloramphidae. Os dados apresentados por esses autores complementaram as antigas descrições existentes, fornecendo novos caracteres e sinapomorfias para a família, além de ressaltar a importância dos caracteres larvais para estudos de taxonomia e sistemática

deste grupo. No entanto, algumas espécies de *Cycloramphus*, que já possuíam a descrição da morfologia externa do girino, permaneceram de fora dessa análise, como *C. bandeirensis* Heyer, 1983, *C. valae* Heyer, 1983, *C. rhyakonastes* Heyer, 1983, *C. parvulus* Girard, 1853 e *C. heyeri* Segalla, Berneck, Canedo, Caramaschi, Cruz, Garcia, Grant, Haddad, Lourenço, Mângia, Mott, Nascimento, Toledo, Werneck & Langone, 2021, resultando em uma lacuna de conhecimentos ainda a ser preenchida. Como discutido neste último trabalho, os caracteres larvais, além de suportarem o monofiletismo do grupo, também podem contribuir significativamente para uma melhor resolução das relações entre as espécies da família (Dias et al., 2021).

A citogenética é outra ferramenta muito útil na taxonomia integrativa, permitindo em muitos casos, a discriminação entre espécies (Cuevas, 2008, Medeiros et al., 2003). Essa ferramenta também detecta possíveis novas espécies, processos incipientes de especiação (Siqueira et al., 2009) e auxilia na compreensão da história evolutiva, principalmente quando associamos os dados cromossômicos aos moleculares (Targueta et al., 2010; Souza et al., 2020; Gazoni et al., 2021; Bueno et al., 2021). O uso de marcadores citogenéticos tem se mostrado valioso em casos que o número cariotípico e/ou a morfologia cromossômica é conservado entre as espécies. Estes podem servir como caracteres citotaxonômicos, além de auxiliar na descoberta dos processos que ocorreram na diferenciação dos cariótipos de um grupo (Lourenço et al., 2008; Peixoto et al., 2016; Silva et al., 2021).

As técnicas de citogenética clássica como AG-NOR e Banda-C podem evidenciar variações e fornecem marcadores espécie-específicos em alguns casos (Noletto et al., 2011). Com o progresso da biologia molecular, a criação da técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) permitiu um grande avanço nos estudos cromossômicos, podendo explorar de forma mais aprofundada a evolução do cariótipo de anfíbios, permitindo mapear e localizar genes específicos e sequências repetitivas (Peixoto et al., 2015; Erneti et al., 2019; Cholak et al., 2020).

As sequências repetitivas compõem a maior parte do genoma dos eucariotos e podem ser classificadas como codificantes e não codificantes. As codificantes englobam as sequências das famílias multigênicas, como as de DNA ribossomal e histonas (Martins, 2011). Já as sequências não codificantes podem ser divididas em dois grupos: as que são organizadas em repetições dispersas no genoma, chamadas de elementos transponíveis, e as que são organizadas em *tandem*, como os satélites, minissatélites e microssatélites (Charlesworth et al., 1994; Biscotti et al., 2015). Essas sequências são responsáveis por diversas funções no

genoma, como regulação gênica e organização da estrutura da cromatina (Bagshaw, 2017). Por mostrarem uma taxa evolutiva mais rápida que o restante do genoma (Schlotterer, 2000), são importantes marcadores para a biodiversidade em estudos genéticos (Oliveira et al., 2006). O mapeamento dessas sequências tem se mostrado uma boa fonte de dados para compreender os processos evolutivos em grupos de vertebrados, como por exemplo, os anfíbios. Mesmo com o crescente número de trabalhos de citogenética de anfíbios, muitas espécies ainda carecem de descrições cariotípicas ou possuem apenas informações restritas ao número diploide e número fundamental.

Dentro da família Cycloramphidae, o gênero *Cycloramphus* possui apenas 12 das 30 espécies cariotipadas (Beçak & Beçak, 1970; Lima et al., 2011; Noletto et al., 2011; Guedes et al., 2019; Bueno et al., 2021), com poucos trabalhos que vão além do número diploide obtido pela coloração convencional com Giemsa. O número cariotípico dentro de *Cycloramphus* apresenta estabilidade com $2n=26$ em todas as espécies estudadas, um padrão também observado em *Thoropa* Cope, 1865, um gênero também pertencente à Cycloramphidae (Cholak et al., 2020). A maioria das variações encontradas no cariótipo de *Cycloramphus* estão relacionadas com a morfologia cromossômica e com marcações específicas de Ag-NOR e Banda-C. No entanto, o uso de DNA repetitivo pode fornecer ainda mais pistas para o estudo da evolução cromossômica dentro do grupo, além de possíveis marcadores citotaxonômicos. Com tudo isso, se mostra necessário ampliar os estudos citogenéticos por meio da descrição de novos cariótipos. Essa descrição associada ao uso de outras técnicas e marcadores, podem fornecer informações importantes para um melhor entendimento dos padrões evolutivos cromossômicos do grupo.

Cycloramphus bandeirensis Heyer, 1983, juntamente com *C. organensis* Weber, Verdade, Salles, Fouquet, Carvalho-e-Silva, 2011 são as únicas espécies que habitam áreas abertas de campos de altitude. *Cycloramphus. bandeirensis* é endêmica do Parque Nacional do Caparaó, localizado na porção norte da Serra da Mantiqueira, ocupando os estados de Minas Gerais e Espírito Santo. Essa espécie habita paredões rochosos em que há a presença de água corrente ao longo da trilha para o Pico da Bandeira, e até então só foi encontrada no lado capixaba do parque (Heyer, 1983; Verdade et al., 2019).

Descrita em 1983, *C. bandeirensis* permaneceu por muitos anos com uma grande deficiência de informações básicas, sendo que somente recentemente dados de história natural, girino e canto foram publicados (Verdade et al., 2019; Souza et al., 2020). Ainda assim, a espécie foi descrita com base em um macho adulto e um juvenil, sendo as

informações sobre sua morfometria, morfologia, coloração e variação nesses caracteres escassas. Não só isso, mas morfologia interna dos girinos permanece desconhecida, sendo essa uma fonte importante de caracteres e informações (Dias et al., 2021). Dados sobre seu cariótipo também são inexistentes.

Os dados cariotípicos e da morfologia oral interna larval podem contribuir para elucidar as relações filogenéticas dentro do gênero. Além disso, por meio da obtenção do cariótipo e da realização das técnicas de bandeamento, é possível procurar por padrões que sejam espécie-específicos. Esses padrões podem auxiliar na delimitação da espécie e também possibilitam compreender mais sobre a evolução cariotípica de *Cycloramphus* e da família Cycloramphidae.

2. OBJETIVO GERAL

Realizar a caracterização morfológica, morfométrica e cromática de juvenis e adultos de *Cycloramphus bandeirensis*; bem como descrever a morfologia oral interna de sua larva, e também fornecer a primeira caracterização cariotípica para a espécie.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A) Recaracterizar o holótipo, fornecer a primeira caracterização morfológica e morfométrica dos adultos, incluindo fêmeas de *Cycloramphus bandeirensis*;
- B) Avaliar se há variabilidade morfológica, morfométrica e cromática de *C. bandeirensis*;
- C) Analisar se existem variações ontogenéticas na espécie;
- D) Caracterizar a morfologia oral interna das larvas de *C. bandeirensis*;
- E) Disponibilizar uma chave taxonômica interativa para identificação das espécies de *Cycloramphus*;
- F) Caracterizar pela primeira vez o conjunto cromossômico de *C. bandeirensis*, e investigar se seu cariótipo segue o padrão encontrado para as demais espécies do gênero;
- G) Mapear diferentes sequências repetitivas nos cromossomos de *C. bandeirensis* e analisar se essas sequências são marcadores citotaxonômicos que podem contribuir para o entendimento da evolução cariotípica do gênero.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Morfologia

3.1.1 Exemplos de coleção

Para a caracterização morfológica foram analisados exemplares de *Cycloramphus bandeirensis* depositados na Coleção Herpetológica do Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa (MZUFV), do Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ) e do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), onde se encontra o holótipo. Além disso, também foram examinados exemplares das 30 espécies de *Cycloramphus* destas mesmas coleções, priorizando a série tipo quando possível. A Tabela S1 contém uma lista de todos os exemplares analisados.

3.1.2 Coleta de espécimes

De forma a aumentar o número de exemplares de *C. bandeirensis* para análise, dez exemplares, incluindo adultos e juvenis, além de sete girinos foram coletados. As coletas ocorreram no Parque Nacional do Caparaó, localizado na cidade de Dolores do Rio Preto, no estado do Espírito Santo, Brasil. A coleta foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (SISBio 78748). Os animais coletados foram fixados em formol 10% e depositados na Coleção Herpetológica do Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa (MZUFV). Os girinos correspondem aos lotes 431 e 432 desta mesma coleção.

3.1.3 Caracterização morfológica – juvenis e adultos

Foram analisados 31 exemplares de *C. bandeirensis*, incluindo o holótipo. Os caracteres utilizados para a caracterização morfométrica e morfológica dos espécimes adultos foram os mesmos utilizados em descrições mais recentes de outras espécies de *Cycloramphus* (Heyer 1983; Weber et al., 2011; Silva & Ouverney, 2012). Foram realizadas 14 medidas de acordo com Waters et al., (2016), com auxílio de um paquímetro de precisão 0,1mm sob microscópio estereoscópico. As medidas foram: comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento da cabeça (CC), largura da cabeça (LC), diâmetro do olho (DO), distância entre o focinho e a narina (DFN), distância interorbital (DIO), distância internasal (DIN), distância entre a narina e o olho (DNO), comprimento da mão (CMA), comprimento da coxa (CCX), comprimento da

tíbia (CTB), comprimento do tarso (CT), comprimento do antebraço (CA) e comprimento do braço (CB). A fórmula das membranas seguiu Savage & Heyer (1997). A caracterização cromática tanto em vida quanto em preservativo seguiu Rokotoarison et al. (2017), e foi realizada através de observação *in situ* e de fotografias dos espécimes em seu habitat natural.

Para análise mais minuciosa da presença de tubérculos e/ou glândulas, foi realizado um corte no dorso com o auxílio de um bisturi para remoção de um pedaço da pele em dois machos (MZUFV20562 e MZUFV20567). Este corte foi preparado para observação sob microscopia eletrônica de varredura (MEV). O tecido foi inicialmente desidratado em séries crescentes de álcool 70%, 80%, 90% e 100% por cinco minutos cada, sendo o banho repetido por mais duas vezes na última concentração. Em seguida foi feita a secagem das amostras em ponto crítico utilizando o secador CPD 030 Balzers, a montagem nos *stubs* e a metalização utilizando o metalizador Quorum Q150RS. Os tecidos foram analisados em Microscópio Eletrônico de Varredura Leo 1430VP do Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa.

O sexo dos exemplares foi determinado pela presença de glândula inguinal e fenda vocal nos machos, além da análise direta das gônadas. Com relação a variação ontogenética, foram considerados juvenis os indivíduos que apresentaram CRC menor ou igual ao menor exemplar sexualmente maduro de ambos os sexos. Os juvenis foram então caracterizados morfológicamente e suas características comparadas com a dos adultos, analisando as mudanças observadas principalmente em relação ao padrão de coloração dos espécimes nas diferentes idades.

3.2 Análise dos girinos

Dois girinos no estágio 36 coletados no PARNA-Caparaó foram medidos e caracterizados de acordo com Verdade et al. (2019). Um indivíduo foi dissecado manualmente a fim de expor a cavidade bucofaringeana para análise da morfologia oral interna, descrita seguindo a terminologia proposta por Wassersug (1976).

3.3 Obtenção de imagens dos exemplares

Os exemplares, incluindo os girinos, foram fotografados por meio de *focus stacking* com o auxílio de uma lupa Olympus SZ40 com câmera Canon 1100D acoplada à ocular. As imagens foram sobrepostas utilizando o *software* Zerene Stacker (Zerene Systems LLC). As escalas foram feitas utilizando o *software* ImageJ.

3.4 Chave taxonômica interativa

A partir da análise de exemplares de *Cycloramphus* depositados em coleção em conjunto com informações disponíveis na literatura, foram definidos 15 caracteres descritores e seus respectivos estados de caráter para a produção da chave interativa. A chave foi confeccionada utilizando o programa Xper³ (Laboratory of Informatics and Systematics, University Pierre et Marrie Currie) e pode ser acessada pelo link <http://xper3.fr/xper3GeneratedFiles/publish/identification/3211303712182911697/mkey.html>. Para algumas espécies não foi possível estabelecer o estado do caractere por alguns motivos: apenas espécimes fêmeas disponíveis, exemplares indisponíveis para análise na coleção e/ou falta de informação na literatura sobre o caráter.

3.5 Análises citogenéticas

3.5.1 Obtenção dos cromossomos metafásicos

Foram obtidas suspensões celulares de 6 espécimes coletados no PARNA-Caparaó (2 fêmeas, 4 machos – Tabela 1). Os animais foram alimentados com larvas de besouro *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758. As suspensões foram obtidas por meio de células do epitélio intestinal, seguindo Schmid (1978) e King & Rofe (1976), com modificações. Os animais foram tratados intraperitonealmente com colchicina 0,01% na proporção de 0,01ml/g por quatro horas antes da eutanásia. A eutanásia foi realizada por meio de pincelamento de lidocaína 2% em pomada no interior da boca, na região inguinal e na barriga. Em seguida, o intestino foi removido, cortado de forma a expor o lúmen e incubado em solução hipotônica de citrato de sódio 0,9% por 40 minutos. Posteriormente, foi transferido para um recipiente preenchido com fixador Carnoy 3:1 (metanol: ácido acético) recém-preparado, sendo raspado com o auxílio de espátulas para a dissociação das células do epitélio e incubado por 20 minutos com o conteúdo sendo homogeneizado suavemente com seringas de vidro durante todo o período. A suspensão foi então centrifugada a 1500rpm por 10 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e foi feita a troca do fixador, sendo esse processo repetido por pelo menos duas vezes. Ao fim, as suspensões foram armazenadas em *freezer* a -20°C para posterior preparação das lâminas. Os procedimentos foram autorizados pela Comissão de Ética no Estudo de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV processo 24/2022).

Tabela 1: Espécimes de *Cycloramphus bandeirensis* cariotipados.

Número de tombo	Idade/sexo	Localidade
CT6283	Adulta/Fêmea	Parque Nacional do Caparaó - ES
CT6285	Adulta/Fêmea	Parque Nacional do Caparaó – ES
CT6281	Adulto/Macho	Parque Nacional do Caparaó – ES
CT6282	Adulto/Macho	Parque Nacional do Caparaó – ES
CT6284	Adulto/Macho	Parque Nacional do Caparaó – ES
CT6286	Adulto/Macho	Parque Nacional do Caparaó – ES

CT: Coleção de Tecido e Suspensões Celulares do Laboratório de Sistemática e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa (BEAGLE-UFV).

3.5.2 Preparo das lâminas

As lâminas foram aquecidas em um béquer com água fervente por cerca de cinco minutos e posteriormente colocadas em um suporte em cima do recipiente para receberem o vapor quente. As suspensões foram então gotejadas de uma altura de aproximadamente dois metros. As lâminas foram deixadas em temperatura ambiente para secar por pelo menos dois dias e posteriormente foram coradas com Giemsa 5% diluído em tampão Sörensen para análise do número e morfologia dos cromossomos. A técnica de Banda-C para detecção da heterocromatina foi feita de acordo com Fernández et al. (2002) na presença de formamida, reagente desnaturante de DNA.

3.5.3 Preparação das sondas de rDNA 18S e telomérica (TTAGGG)_n

O DNA de *C. bandeirensis* foi extraído a partir de amostra de fígado de acordo com Targueta (2013). Foi realizada uma reação de PCR utilizando como *template* este DNA na concentração de 100ng/μl, com os *primers* 18SF1 5'-TCTAATTTTTTCAAAGTAAACGC-3' e 18SR1 5'-GTCATATGCTTGTCTCAAAGA3' desenhados para *Melipona quinquefasciata* Lepeletier, 1836 (Pereira, 2006). Posteriormente uma eletroforese em gel de agarose 0,8% foi realizada para confirmar o tamanho do produto, esperado entre 800 e 1000 pares de base (Figura 1).

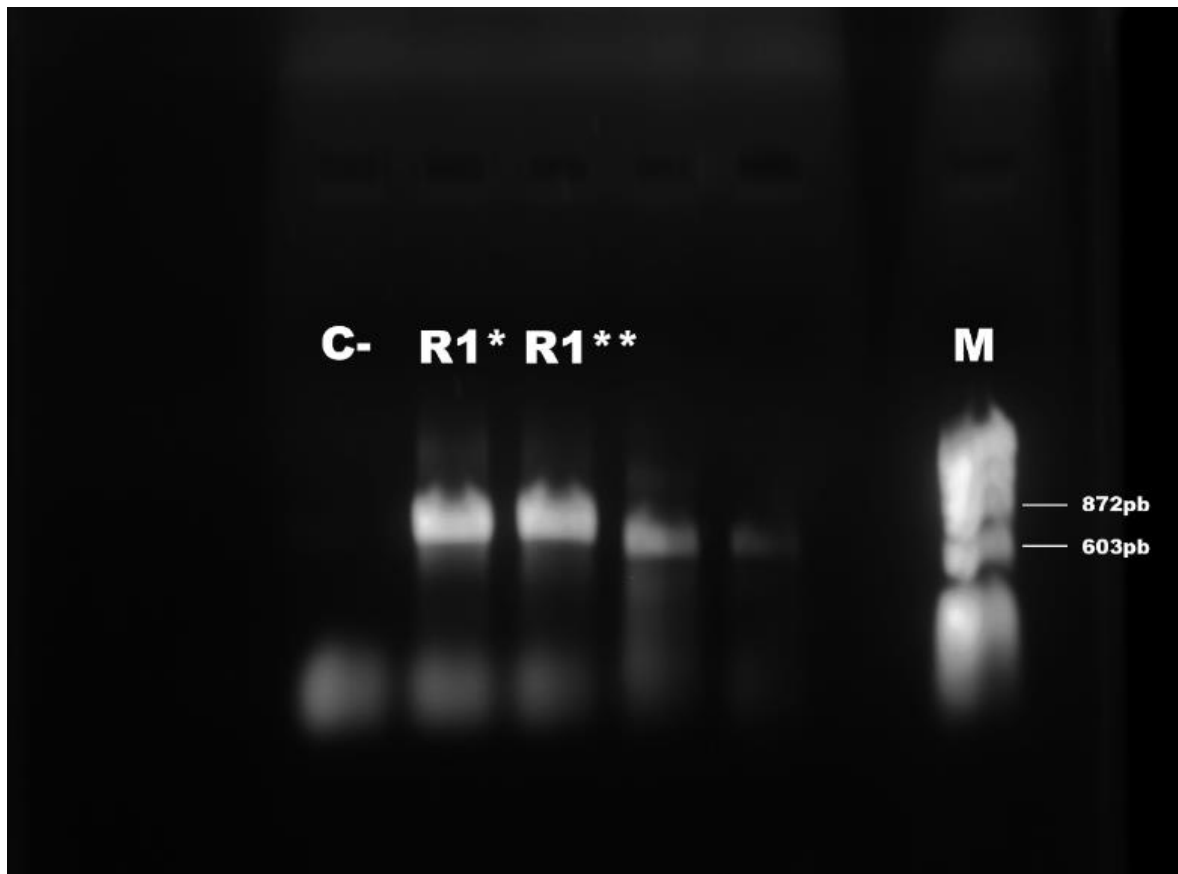


Figura 1: Gel de agarose 0,8% com produto de amplificação da PCR para a região codificadora do gene 18S de *Cycloramphus bandeirensis* para produção de sonda. C-: controle negativo; R1*: *primer* R1 amplificado à 55°C; R1**: *primer* R1 amplificado à 60°C; M: marcador Φ 174 DNA/HAEIII (Promega).

A sonda telomérica foi obtida seguindo Ijdo et al. (1991), a partir de uma reação de PCR na qual os próprios *primers* ((TTAGGG)₅ e (GGGTAA)₅) servem como *templates* para amplificação, sem o uso de DNA. Posteriormente uma eletroforese em gel de agarose 1% foi realizada para verificar o arraste esperado até 200 pares de base (Figura 2).

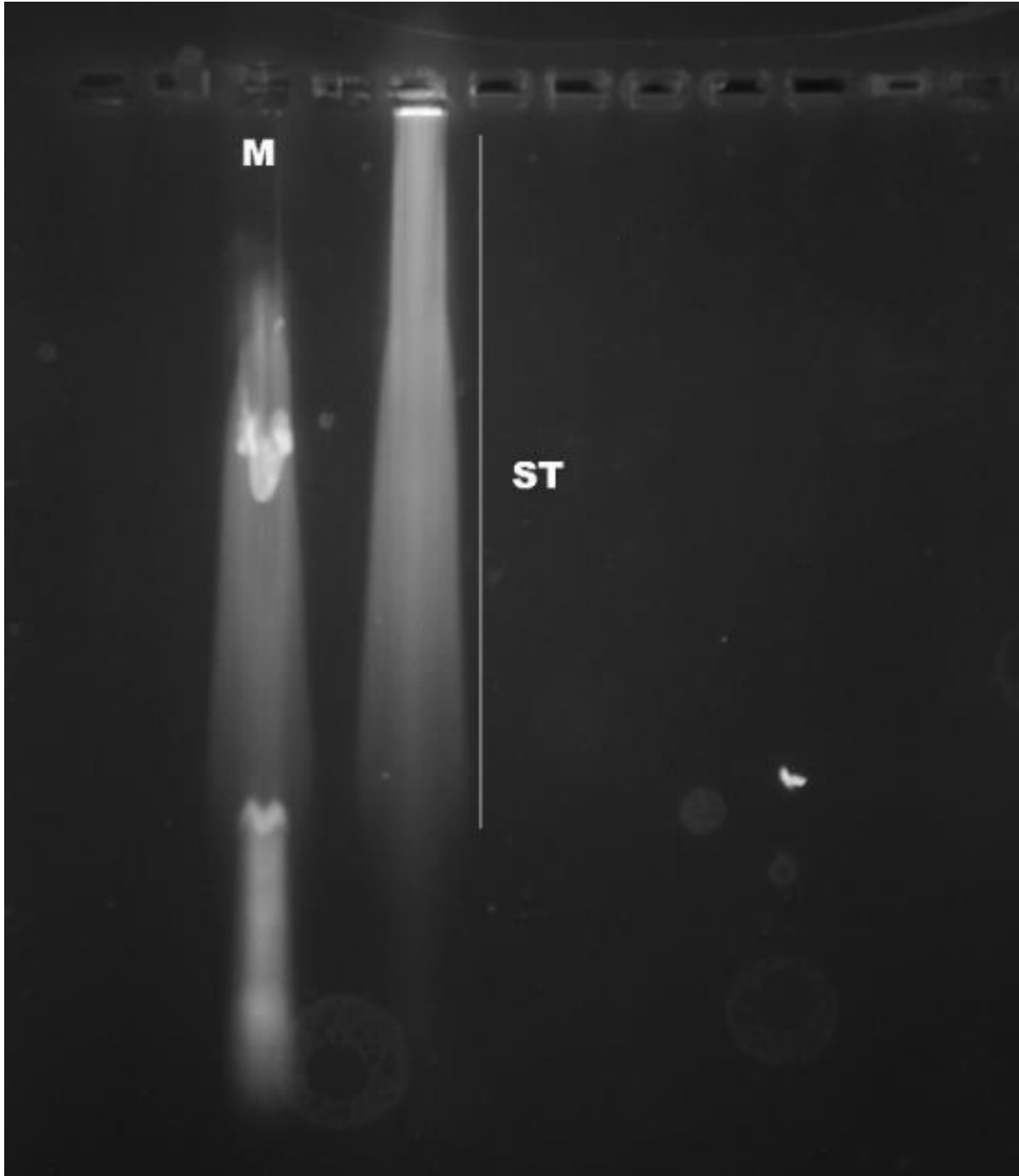


Figura 2: Gel de agarose 1% com produto de amplificação da PCR para produção de sonda telomérica. M: marcador 25bp DNA Ladder (ThermoFisher Scientific); ST: sonda telomérica.

Os produtos de PCR provenientes das duas reações foram marcados com digoxigenina-11-dUTP por meio de *nick-translation* (Roche Applied Science, Mannheim,

Germany), e o seu sinal foi detectado durante o ensaio de hibridização com com anti-digoxigenina-rodamina (Roche Applied Science, Mannheim, Germany).

3.5.4 Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH)

Os experimentos de FISH para o gene 18s foi feito de acordo com Pinkel et al., 1986, com as seguintes modificações: as lâminas foram inicialmente incubadas em HCL 2M por 2 minutos e em seguida lavadas em PBST por 3 minutos no *shaker*. Para as sondas de DNA repetitivo seguiu-se Ernetti et al., 2019.

3.5.5 Análise cromossômica

As lâminas contendo os cromossomos metafásicos foram analisadas em microscópio de luz e as melhores metáfases foram fotografadas utilizando o fotomicroscópio Olympus BX53 com câmera DP73 acoplada e software CellSens (Olympus LifeSciences). Os cromossomos foram medidos utilizando o *software* ImageJ e pareados de acordo com a posição do centrômero. Posteriormente foram classificados pela sua morfologia de acordo com Levan et al. (1964), utilizando a razão (r) entre o braço longo (q) e curto (p), sendo $r = q/p$. Os dados obtidos foram comparados com as descrições cariotípicas já existentes para outras espécies do gênero (Beçak & Beçak, 1970; Lima et al., 2011; Noletto et al., 2011; Guetes et al., 2019; Bueno et al., 2021) e também da família (Cholak et al., 2020). O cariótipo também foi associado à filogenia publicada por de Sá e colaboradores (2019) de forma a compreender ainda mais os padrões de evolução dos cromossomos dentro do gênero.

4. RESULTADOS

4.1 Morfologia

4.1.1 Recaracterização do holótipo

Holótipo. MZUSP 52924, juvenil coletado no Parque Nacional do Caparaó à 2450m de altitude por L. C. Branch em novembro de 1977 (Figura 3).

Corpo elíptico, cabeça mais estreita em relação ao corpo (LC 38% do CRC), e mais larga do que longa (CC 77% do LC). Focinho arredondado vista dorsal e lateral. Ventre liso. Dorso granuloso; grânulos bem marcados, próximos, distribuídos de forma irregular por todo o dorso, incluindo braços e pernas. Região gular granulosa. Glândula inguinal

ausente. Narinas pouco protuberantes, arredondadas, posicionadas dorsolateralmente, mais próximas do focinho do que dos olhos. Tímpano e anel timpânico indistintos externamente. Prega dérmica supra-timpânica presente somente do lado direito, discreta, se estendendo da parte posterior do olho até o antebraço. Olhos proeminentes, posicionados dorsolateralmente, levemente direcionados para frente. Pálpebra granulosa. Região loreal ligeiramente côncava. Canto rostral distinto, porém pouco marcado. Saco vocal indistinto. Pseudo-odontóide presente na sínfise mandibular, cônico, com uma ponta. Processo dentífero do vômer triangular, com angulação em "V" aberto. Dentes dispostos horizontalmente, três de cada lado. Processo quase em contato medial e posterior as coanas. Coanas arredondadas, grandes em relação ao vômer, dispostas lateralmente. Língua arredondada, livre na margem posterior. Fenda vocal ausente. Membros anteriores relativamente curtos em relação ao corpo (CB+CAB 42% CRC). Comprimento dos dedos: III > IV > II ≥ I. Dobra dérmica pouco marcada na borda interna dos dedos I, II e III. Ponta dos dedos lisa. Dedo I sem asperidades nupciais evidentes. Tubérculos subarticulares presentes, sendo um em cada dedo. Tubérculos supranumerários ausentes. Tubérculo metacarpal interno elíptico, externo arredondado. Membros posteriores compridos em relação ao corpo (CT+CCX 79% CRC). Membrana interdigital dos pés reduzida, com fórmula I 1 3/4- - 2+ II 1 3/4 - 3+ III 2 3/4 - 4- IV 3 3/4 - 2+ V. Tubérculos subarticulares presentes nos dedos dos pés, sendo 1 nos dedos I e II, 2 no dedo III, 3 no dedo IV e 2 no dedo V. Tubérculo metatarsal interno elíptico, externo ausente. Prega tarsal indistinta. Textura do pé granulosa. Medidas em milímetros: CRC = 25,72, LC = 7,61, CC = 9,87, DO = 2,87, DFN = 1,21, DIO = 2,11, DIN = 1,89, DNO = 2,21, CMA = 6,08, CAB = 4,14, CB = 6,06, CCX = 13,73, CTB = 13,20, CT = 6,73 e CP = 12,77.

4.1.2 Coloração do holótipo

Coloração do dorso marrom clara com pequenas manchas e pontos brancos, assim como os membros anteriores e posteriores. Presença de uma faixa branca entre os olhos. Sem barras ou listras na boca. Ventre marrom mais claro que o dorso com a presença de pontos brancos somente na região do queixo e barriga.

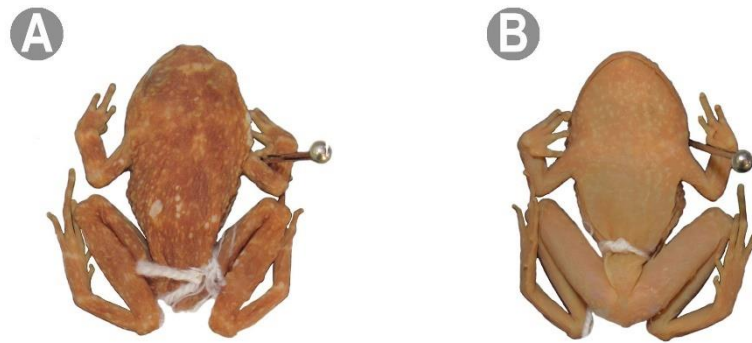


Figura 3: Vista dorsal (A) e ventral (B) do holótipo de *Cycloramphus bandeirensis* (MZUSP52932). Barra = 10mm.

4.1.3 Caracterização morfológica dos adultos (N= 4 fêmeas, N = 13 machos) e variações

Todos os exemplares apresentam corpo elíptico, cabeça mais estreita em relação ao corpo (LC 36-40% do CRC), e mais larga do que longa (CC 69-86% do LC) (Figura 4 e 5). O focinho geralmente é arredondado em vista lateral, com apenas 2 indivíduos apresentando o formato obtuso, e arredondado em vistas dorsal e ventral. Ventre liso. Dorso granuloso; grânulos adjacentes, sem “*shagreen*” ou tubérculos, distribuídos de forma irregular pelo dorso, estendendo-se até os membros. Região gular granulosa. Glândula inguinal arredondada, pouco protuberantes, presente somente nos machos adultos (Figura 6). Narinas pouco protuberantes, arredondadas, posicionadas dorsolateralmente, mais próximas do focinho do que dos olhos. Tímpano e anel timpânico indistintos externamente. Prega dérmica supra-timpânica presente e discreta, se estendendo da parte posterior do olho até o antebraço. Olhos proeminentes, posicionados dorsolateralmente, levemente direcionados para frente, com menisco na margem superior da íris cobrindo parte da pupila. Pupila horizontal, oval. Pálpebra granulosa. Região loreal levemente côncava. Canto rostral distinto, porém pouco marcado. Saco vocal indistinto externamente. Pseudo-odontóide presente na sínfise mandibular, triangular, com duas ou três pontas. Processo dentífero do vômer com formato e angulação variável (Figura 7). Dentes vomerianos presentes, variando de 2 a 4 no lado direito e 2 a 7 no esquerdo, dispostos em fileiras transversais ou

horizontais entre e posteriormente às coanas. Coanas arredondadas, dispostas lateralmente. Língua arredondada, livre na margem posterior, ocupando quase toda o assoalho bucal em alguns casos. Fenda vocal presente em machos adultos, posicionada lateralmente e atrás da língua. Membros anteriores relativamente curtos em relação ao corpo (CB+CAB 38-44% CRC). Comprimento dos dedos: III > IV > II ≥ I. Dobra dérmica presente na borda interna dos dedos I, II e III. Ponta dos dedos lisa. Dedo I sem asperidades nupciais evidentes. Tubérculos subarticulares presentes (Figura 8), sendo um em cada dedo. Tubérculos supranumerários podem estar ausentes ou presentes; quando presentes, geralmente pouco marcados, podendo ser observados 1 a 5 na mão direita e 1 a 7 na esquerda; Tubérculo metacarpal interno elíptico, externo arredondado. Membros posteriores compridos em relação ao corpo (CT+CCX 89-102% CRC). Membrana interdigital dos pés reduzida (Figura 9), variando em tamanho (Tabela 3). Tubérculos subarticulares presentes nos dedos dos pés, sendo 1 nos dedos I e II, 2 a 3 no dedo III, 1 a 3 no dedo IV e 2 no dedo V. Tubérculo metatarsal interno elíptico, externo presente ou ausente (Figura 10); quando presente, pequeno e arredondado. Textura do pé granulosa. A observação da pele do dorso em MEV mostrou que *C. bandeirensis* não apresenta tubérculos por cima dos grânulos, mas sim muitos poros com formato oval e borda elevada (Figura 11). Na tabela 2 estão sumarizadas as principais variações e na tabela 3 se encontram as medidas feitas para os machos e fêmeas.

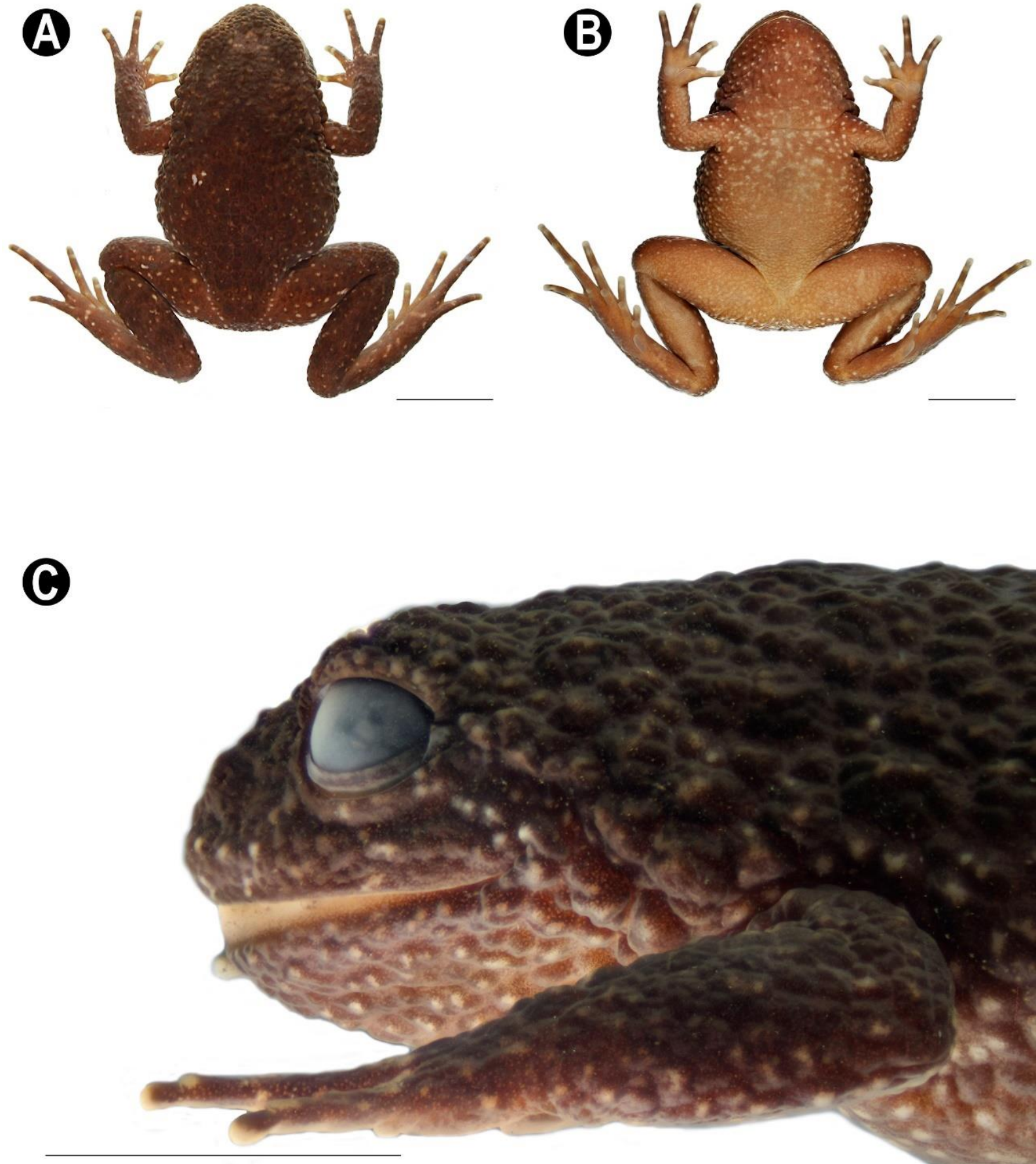


Figura 4: Vista dorsal (A), ventral (B) e lateral (C) de macho de *Cycloramphus bandeirensis* (MZUFV18665).
Escala = 10mm.



Figura 5: Vista dorsal (A), ventral (B) e lateral (C) de fêmea de *Cycloramphus bandeirensis* (MZUFV18672). Escala = 10mm.

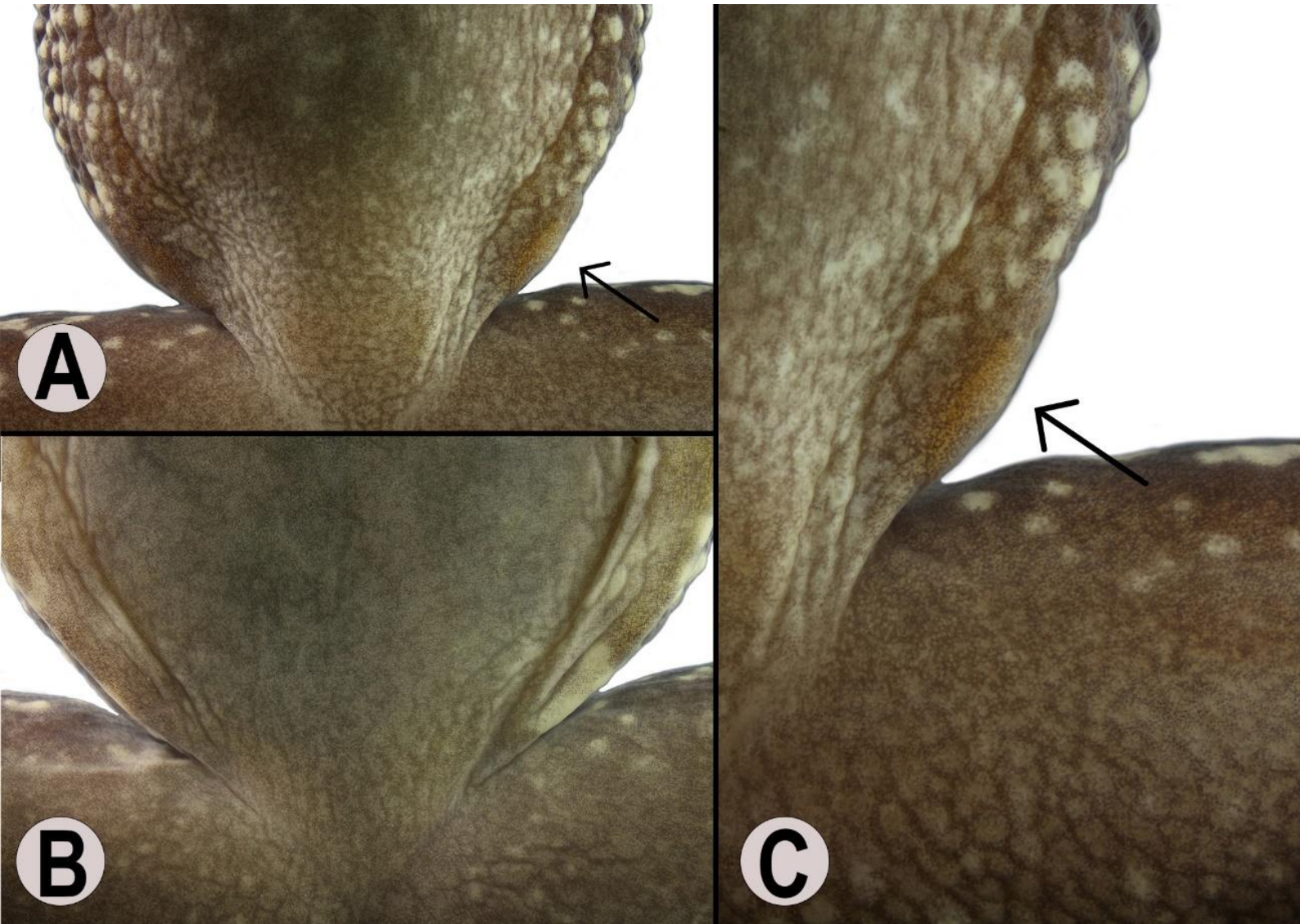


Figura 4: Glândula inguinal sexualmente dimórfica de *Cycloramphus bandeirensis*. (A) e (C): macho, seta aponta para glândula. (B): fêmea.

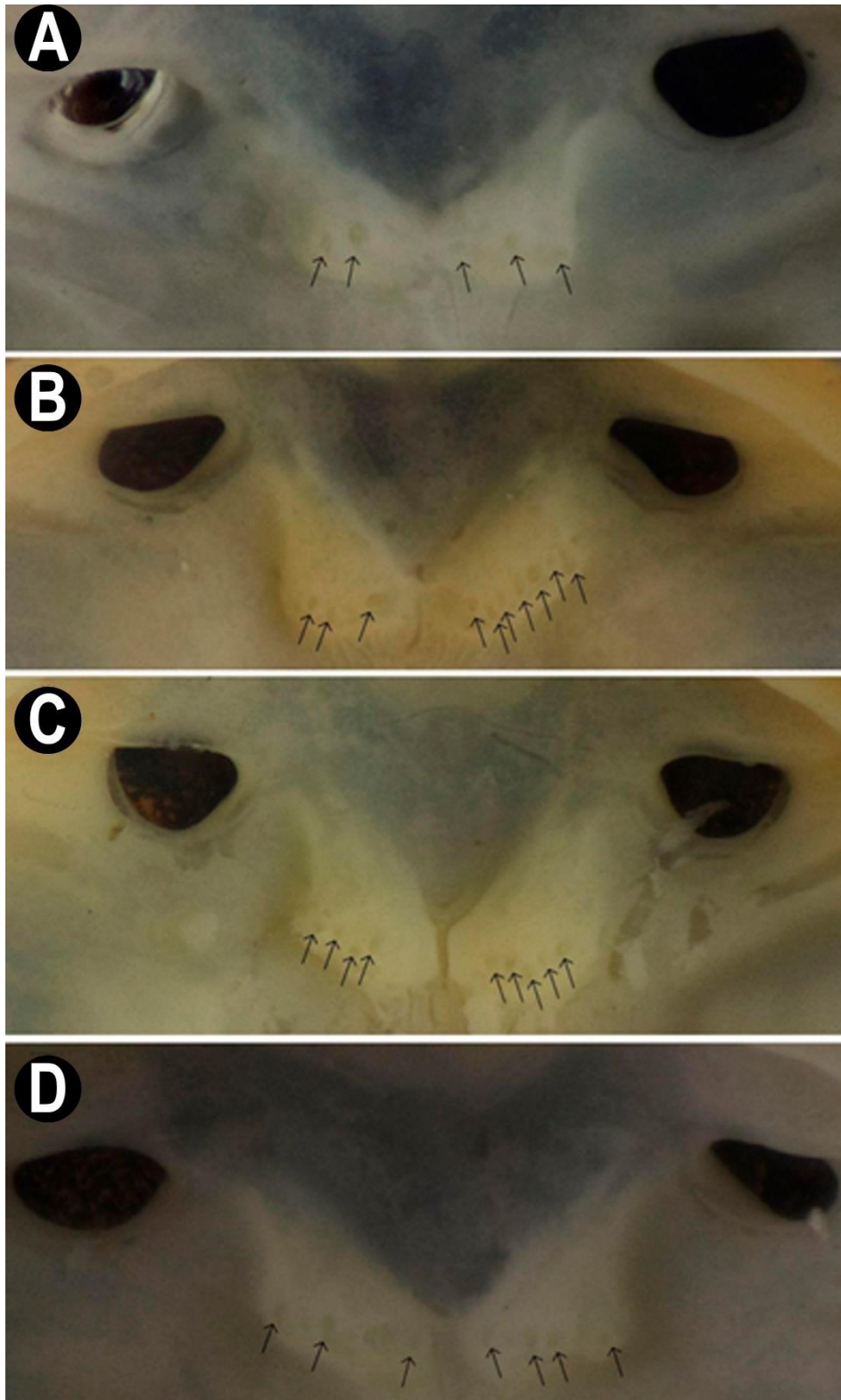


Figura 7. Variação da quantidade e disposição dos dentes vomerianos em *Cycloramphus bandeirensis*. (A) MZUFV18665, (B) MZUFV18664, (C) MZUFV18647, (D) MZUFV18771. Setas apontam para os dentes vomerianos.

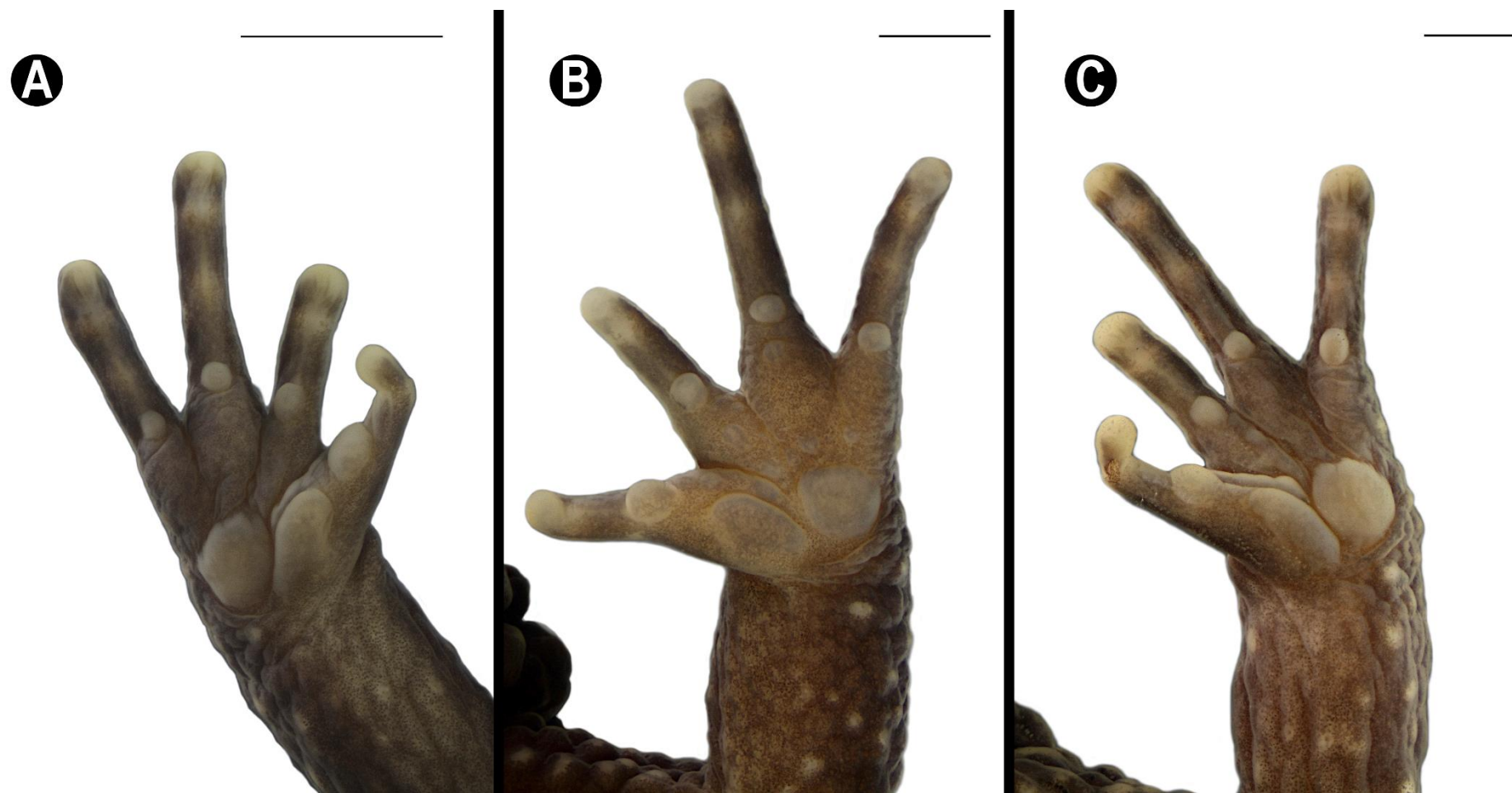


Figura 8. Vista ventral da mão de *Cycloramphus bandeirensis*, mostrando os quatro tubérculos subarticulares presentes em cada mão, assim como o tubérculo metacarpal interno e externo bem evidentes. Número de tubérculos supranumerários variável, sendo ausentes (A), sete em (B) e dois em (C). Escala = 2mm.

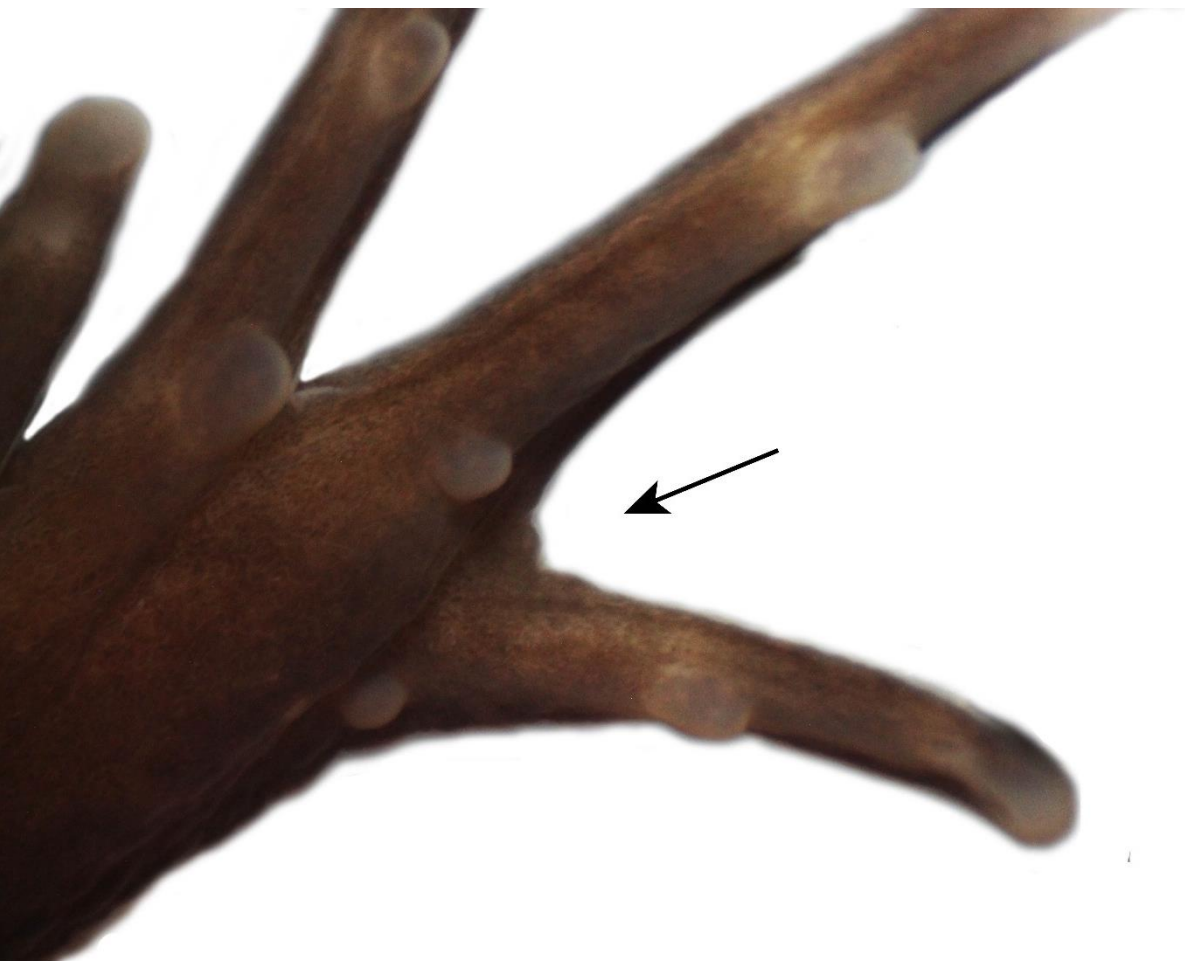


Figura 9. Membrana interdigital reduzida entre os artelhos em *Cycloramphus bandeirensis* (MZUFV18665). A seta aponta para a membrana. Fórmula: I (2⁻ - 2^{3/4}) II (2 - 3^{1/2}) III (3 - 4) IV (4⁺ - 2⁺) V.



Figura 10. Vista ventral do pé de *Cycloramphus bandeirensis*. (A) MZUFV18665, com tubérculo metatarsal externo evidente e três tubérculos subarticulares no dedo IV. (B) MZUFV18663, sem tubérculo metatarsal externo e sem o primeiro tubérculo subarticular do dedo IV. Escala = 2mm.

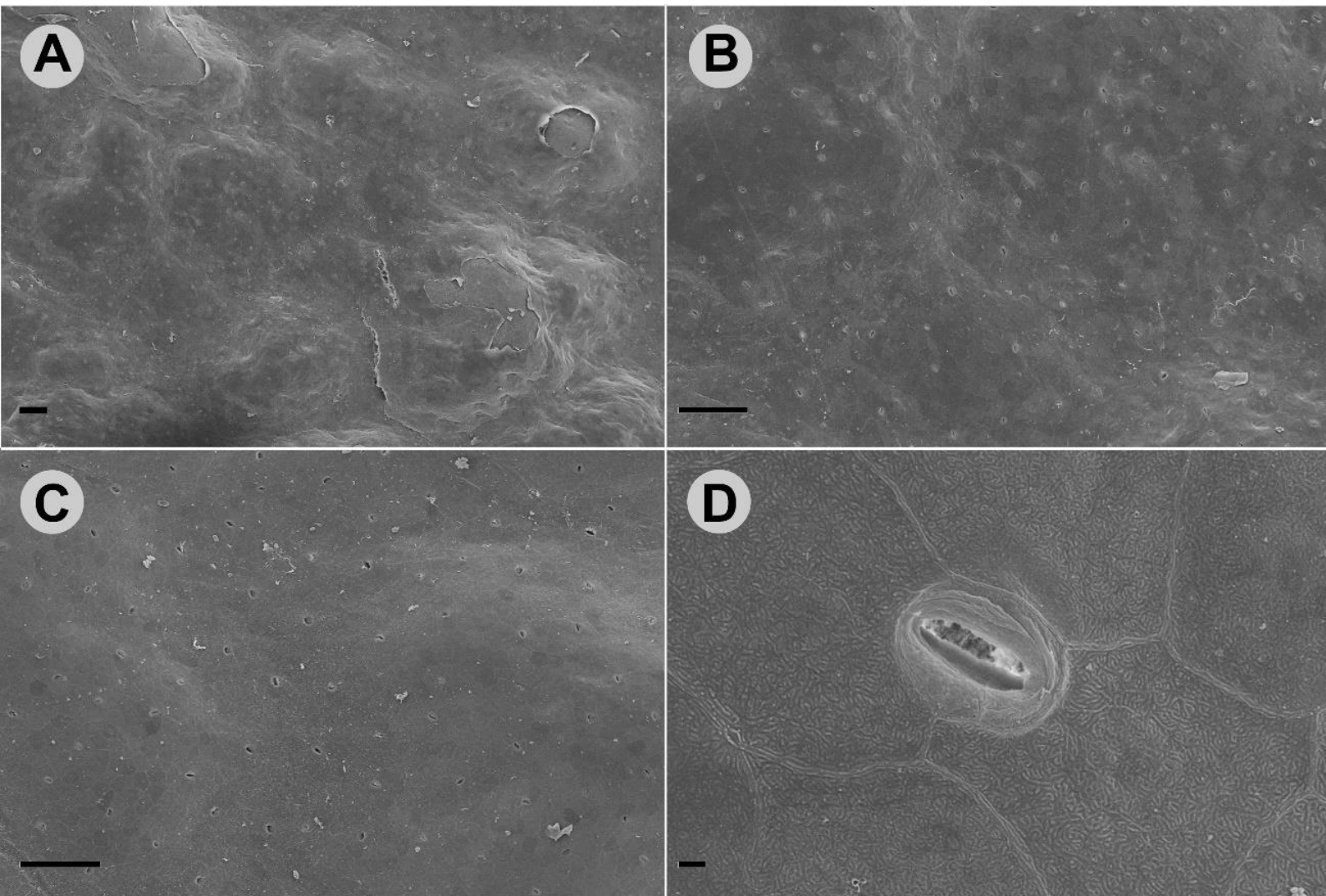


Figura 11. Pele do dorso de *Cycloramphus bandeirensis* submetida à microscopia eletrônica de varredura em diferentes magnificações, evidenciando as glândulas. (A) 90X, (B) 288X, (C) 326X – escala = 100 μ m. (D) 5800X - escala = 2 μ m.

Tabela 2 – Variações encontradas nos caracteres morfológicos de de *Cycloramphus bandeirensis*.

Caráter	Variação
Formato do focinho em vista lateral	Padrão A, B (maioria) ou raramente F <i>sensu</i> figura 6 em Heyer, 1983a
Pseudo-odontóide	Pode ter uma a três pontas
Disposição dos dentes vomerianos	Em séries transversais ou horizontais
Quantidade de dentes vomerianos	Podem apresentar 2 a 7 dentes
Tubérculos supranumerários	Podem estar presentes ou ausentes; quando presentes variam de 1 a 7 em cada mão
Quantidade de tubérculos subarticulares nos dedos dos pés	Podem ter 2 ou 3 no dedo III, 1 a 3 no dedo IV
Tubérculo metatarsal externo	Pode estar presente ou ausente

Tabela 3 - Medidas (em milímetros) dos espécimes de *Cycloramphus bandeirensis*. Estão representados a média e o desvio padrão, seguidos do menor e maior valor de cada medida dentro dos parênteses.

Medida	Machos (N = 13)	Fêmeas (N = 4)
CRC	34,24 ± 2,35 (32,55-37,99)	40,66 ± 2,80 (37,70-45,0)
CC	10,06 ± 0,74 (9,78-11,56)	11,63 ± 0,40 (10,97-12,0)
LC	13,35 ± 0,75 (12,02-14,32)	15,34 ± 0,67 (14,53-16,40)
DO	3,65 ± 0,47 (3,44-4,30)	4,51 ± 0,34 (4,04-4,90)
DFN	1,87 ± 0,27 (1,42-2,29)	2,24 ± 0,40 (1,88-2,87)
DIO	3,34 ± 0,26 (2,86-3,69)	4,08 ± 0,51 (3,28-4,62)
DIN	2,56 ± 0,23 (2,37-2,85)	3,11 ± 0,14 (2,95-3,30)
DNO	2,76 ± 0,21 (2,56-3,17)	3,21 ± 0,48 (2,74-4,00)
CCX	16,50 ± 0,83 (16,10-17,73)	18,67 ± 0,53 (18,08-19,50)
CTB	16,50 ± 0,48 (16,25-17,33)	19,38 ± 0,51 (18,70-20,01)
CT	7,93 ± 0,43 (7,49-9,12)	9,61 ± 0,74 (8,80-10,80)
CP	17,37 ± 0,78 (16,37-18,67)	20,27 ± 0,50 (19,60-21,26)

CA	6,51 ± 0,58 (5,88-7,90)	8,29 ± 0,57 (7,63-9,20)
CB	6,90 ± 0,48 (6,38-7,61)	7,53 ± 1,42 (5,67-9,50)
CMA	8,75 ± 0,53 (8,39-9,71)	10,11 ± 0,38 (9,53-10,57)

4.1.4 Coloração em vida

Adultos (Figura 12)

Região dorsal marrom escura à marrom-arroxeadada, podendo ou não ter a presença de pontos amarelos e brancos. Os pontos podem estar distribuídos ao longo de toda parte dorsal incluindo a cabeça, ou concentrados próximos à região dos flancos. A região inguinal apresenta uma coloração marrom clara, contrastando com a do dorso. Na vista dorsal, os membros anteriores são marrom escuros, podendo possuir alguns pontos claros. As mãos podem apresentar pontos ou faixas e manchas claras, principalmente sobre as articulações. A parte dorsal da coxa segue a mesma coloração do dorso, variando de marrom escura a um marrom arroxeadado, com alguns pontos claros ou amarelos. A região anteroventral da coxa é mais clara e apresenta pontos brancos ou amarelados. A parte posterior da coxa na maioria dos indivíduos pode possuir pontos amarelados em posições e quantidades variáveis, pouco ou bem marcados, e em poucos casos pode até mesmo ser manchada. A região da tíbia segue o mesmo padrão da coxa. Os lábios dos adultos não possuem listras ou barras distintas. A região gular dos machos é marrom escura com pontos brancos. Já nas

fêmeas, a região gular é mais clara. Barriga mais clara que o queixo, com manchas brancas, que em alguns casos se concentram na região peitoral. A íris é marrom com manchas prateadas e/ou de cor cobre, partindo da pupila. A pupila é preta e apresenta um menisco arredondado na região superior de coloração parecida com a da íris do indivíduo.

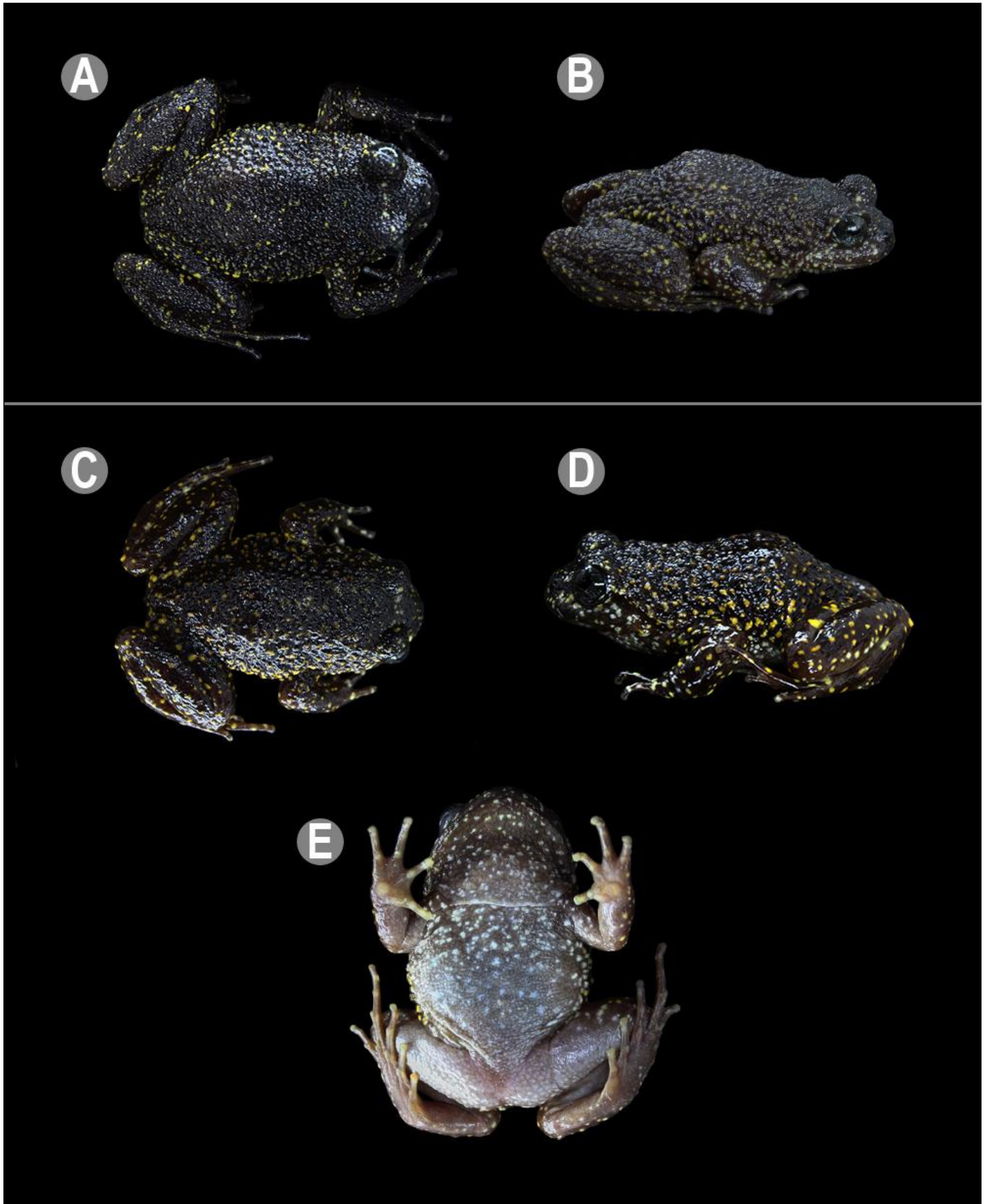


Figura 12. Coloração em vida de *Cycloramphus bandeirensis*. Parte superior – fêmea em vista (A) dorsal, (B) lateral. Parte inferior – macho em vista (C) dorsal, (D), lateral e (E) ventral.

Juvenis (Figura 13)

Região dorsal marrom claro à marrom escura, podendo apresentar manchas brancas, amareladas e em alguns casos, amarelo-esverdeadas próxima à região supraescapular e/ou também distribuídas na região dos flancos e no restante do dorso. Faixa amarelada bem marcada entre os olhos. Região inguinal marrom clara, contrastando com a do dorso. Em vista dorsal, os membros anteriores são marrom escuros com a presença de faixas branco-amareladas dispostas horizontalmente, intercalando com a coloração marrom escura. As mãos podem apresentar pontos claros ou faixas e manchas claras, principalmente em cima das articulações. Nos membros posteriores, a parte dorsal da coxa segue o mesmo padrão de cor do dorso. A região anteroventral da coxa é mais clara e apresenta manchas variadas, assim como a parte posterior, que também apresenta pontos claros. A região da tíbia segue o mesmo padrão da coxa, podendo haver manchas que se distribuem uniformemente alternando com a coloração marrom escuro, assim como nos membros anteriores até os pés. Os lábios podem apresentar desde manchas similares às listras ou listras brancas/amareladas bem delimitadas e marcadas. Os juvenis também podem apresentar manchas na região do focinho e região loreal. Barriga com manchas brancas bem marcadas ou de coloração uniforme. Região gular geralmente clara, podendo chegar a uma coloração levemente amarelada. Os juvenis podem apresentar faixas horizontais amareladas nos dedos. A íris é marrom com manchas prateadas e/ou acobreadas partindo da pupila. A pupila é preta e apresenta um menisco arredondado na região superior de coloração parecida com a da íris.

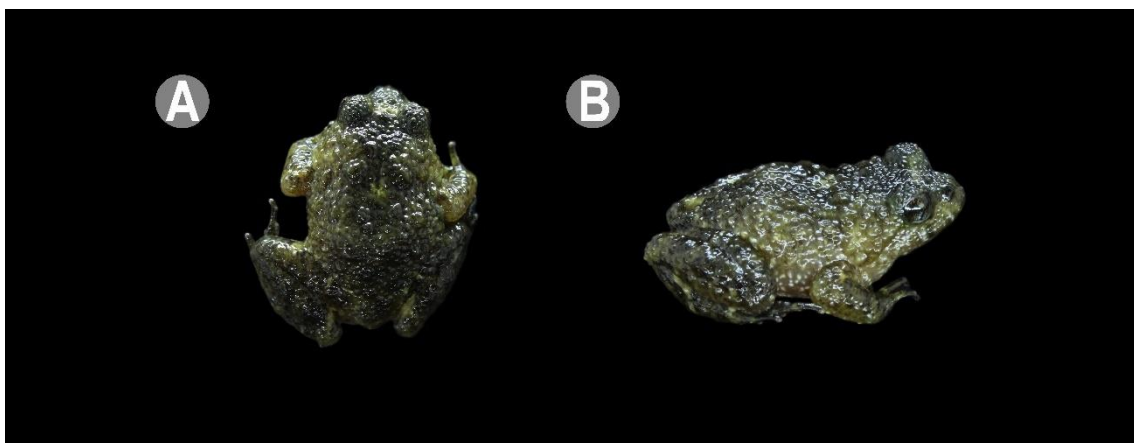


Figura 13. Coloração em vida de juvenil de *Cycloramphus bandeirensis*. (A) vista dorsal e (B) vista lateral.

4.1.5 Coloração em meio preservativo

Os espécimes de *Cycloramphus bandeirensis* preservados em álcool 70% apresentam a coloração do dorso marrom a quase preta. Em espécimes que apresentam pontos ou manchas em vida, estas características continuam evidentes em álcool, porém menos marcadas, principalmente nos juvenis. Os pontos amarelados assumem uma coloração branca. A região dos flancos pode assumir uma coloração mais clara que o dorso em alguns indivíduos. O ventre pode variar da cor marrom mais clara que o dorso a cor creme, sendo mais escura na região gular dos machos. A barriga pode apresentar pequenas manchas brancas ou coloração uniforme, quando essas manchas ficam concentradas somente na região peitoral.

4.1.6 Variações ontogenéticas

Muitas características morfológicas dos juvenis são semelhantes à dos adultos, porém uma variação notável é em relação à coloração, sendo o padrão do juvenil distinto do adulto. O juvenil de *C. bandeirensis* apresenta o dorso bem mais manchado, assim como a presença de barras no lábio superior e nos membros, e uma faixa característica entre os olhos. Essas manchas vão sendo substituídas por pontos distribuídos por todo o corpo nos adultos, e tanto as barras quanto a faixa entre os olhos podem ser perdidas. Não foram observadas glândulas na região inguinal nos juvenis. A fenda vocal é ausente nos juvenis, com exceção de dois (MZUFV18670 e 20650) que apresentam uma única abertura no lado direito e MNRJ91027 que apresenta apenas pregas, ainda sem perfurações. A maioria dos juvenis também não possuem tubérculos supranumerários distintos.

4.1.7 Dimorfismo sexual

As fêmeas de *Cycloramphus bandeirensis*, em média, são maiores que os machos (CRC 37,7-45,0mm e 32,5-37,9mm, respectivamente). Quanto à coloração, as fêmeas contrastam apresentando a região gular clara, sendo mais escura nos machos. É válido também destacar que os machos possuem fendas vocais e também apresentam macroglândulas na região inguinal, ausente nas fêmeas.

4.1.8 Nova diagnose para *Cycloramphus bandeirensis*

Cycloramphus bandeirensis pode ser identificado pela presença de menisco na parte superior da íris (1), pele granulosa sem tubérculos cornificados (2), focinho arredondado em vista lateral e ventral (3), membrana interdigital dos artelhos reduzida (4), glândula inguinal em machos adultos (5), presença de fendas vocais (6) e pontos amarelos ou brancos na parte posterior da coxa em adultos (manchas em juvenis) (7).

4.1.9 Comparação com outras espécies de *Cycloramphus*

Cycloramphus bandeirensis se diferencia de todas as outras espécies de *Cycloramphus*, exceto *C. juimirim*, *C. rhyakonastes* e *C. semipalmatus* por ter membranas interdigitais entre os artelhos reduzidas (mais desenvolvidas em *C. duseni*, *C. ohausi*, *C. brasiliensis*, *C. granulatus*, *C. izecksohni*, *C. asper*, *C. lutzorum*, *C. cedrensis*, *C. fuliginosus*, *C. dubius*, *C. mirandaribeiroi* e *C. boraceiensis*; ausentes em *C. valae*, *C. carvalhoi*, *C. bolitoglossus*, *C. catarinenses*, *C. diringshofeni*, *C. eleutherodactylus*, *C. migueli*, *C. acangatan*, *C. faustoi*, *C. heyeri*, *C. stejnegeri*, *C. lithomimeticus* e *C. parvulus*). *C. bandeirensis* se diferencia de *C. organensis*, *C. lithomimeticus*, *C. carvalhoi* e *C. parvulus* por possuir macroglândula inguinal sexualmente dimórfica (ausente em *C. organensis* e *C. lithomimeticus*; aglomerado glandular em *C. carvalhoi* e *C. parvulus*). *C. bandeirensis* possui a pele do dorso granulosa (lisa em *C. acangatan*, *C. bolitoglossus*, *C. carvalhoi*, *C. catarinenses*, *C. diringshofeni*, *C. eleutherodactylus*, *C. faustoi*, *C. heyeri*, *C. migueli*, *C. parvulus* e *C. stejnegeri*) sem tubérculos com pontas cornificadas (cornificadas em *C. asper*, *C. boraceiensis*, *C. cedrensis*, *C. duseni*, *C. izecksohni*, *C. lutzorum*, *C. mirandaribeiroi*, *C. rhyakonastes* e *C. semipalmatus*). *C. bandeirensis* se diferencia de *C. parvulus* pela ausência de um *flap* que se estende do ombro até a região inguinal. *C. bandeirensis* se diferencia, exceto de *C. brasiliensis*, *C. boraceiensis*, *C. catarinenses*, *C. cedrensis*, *C. diringshofeni*, *C. fuliginosus*, *C. granulatus*, *C. lutzorum*, *C. parvulus*, *C. rhyakonastes* e *C. semipalmatus* pela presença de fenda vocal (ausente em *C. acangatan*, *C. bolitoglossus*, *C. faustoi*, *C. heyeri*, *C. izecksohni*, *C. migueli*, *C. organensis*, apenas uma prega em *C. dubius*, *C. eleutherodactylus*, *C. juimirim*, *C. lithomimeticus*, *C. mirandaribeiroi* e *C. valae*). *C. bandeirensis* possui o formato do focinho em vista dorsal arredondado (truncado em *C. faustoi*, levemente truncado em *C. migueli*; semicircular em *C. brasiliensis*, levemente semicircular em *C. boraceiensis*, *C. dubius*, *C. lutzorum* e *C. semipalmatus*; subovóide em *C. rhyakonastes*).

4.2 Chave taxonômica interativa para o gênero *Cycloramphus*

A chave obteve sucesso em separar as espécies de *Cycloramphus* com base nos caracteres propostos, com os seguintes estados de caráter:

Lista de caracteres e estados de caráter:

- C1: Textura do dorso** – (0) lisa ou levemente granulosa; (1) granulosa
- C1.2: Tipo de grânulo** – (0) grânulos sem tubérculos; (1) grânulos sem tubérculos e glandular; (2) grânulos sem tubérculos e com “shagreen”; (3) grânulos com tubérculos; (4) grânulos com tubérculo e com “shagreen”
- C1.3: Altura dos tubérculos** – (0) altos; (1) baixos
- C2: Membrana interdigital entre os artelhos** – (0) ausente; (1) presente
- C2.2: Desenvolvimento da membrana** – (0) reduzida; (1) moderada; (2) bem desenvolvida
- C3: Glândula inguinal** – (0) ausente; (1) presente, em forma de macroglândula; (1) presente, em forma de aglomerado glandular
- C4: Patágio** – (0) ausente; (1) presente
- C5: Musculatura adutora da mandíbula** – (0) não proeminente; (1) proeminente
- C5.2: Desenvolvimento da musculatura** – (0) pouco desenvolvida; (1) bem desenvolvida
- C6: Fenda vocal** – (0) ausente; (1) somente uma prega vocal, sem perfuração; (2) presente, perfurada
- C7: Formato do focinho em vista dorsal** – (0) arredondado; (1) truncado
- C8: Tubérculos supranumerários** - (0) ausentes; (1) presentes
- C9: Espinhos nupciais** – (0) ausentes; (1) presentes
- C10: Coloração da barriga em vida** – (0) vermelha; (1) outra cor
- C11: Tamanho do dedo I em relação ao dedo II da mão** – (0) Dedo I maior que o dedo II; (1) dedo I = dedo II; (2) Dedo II maior que o dedo I.

Na tabela 3 se encontra a matriz utilizada para confeccionar a chave.

Tabela 3 – Matriz com as espécies, caracteres e seus respectivos estados de caráter utilizados na chave taxonômica interativa de *Cycloramphus*.

Espécie/Estado de caráter	C1	C1.2	C1.3	C2	C2.2	C3	C4	C5	C5.2	C6	C7	C8	C9	C10	C11
<i>Cycloramphus acangatan</i>	0	-	-	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0
<i>Cycloramphus asper</i>	1	4	-	1	1	1	0	0	-	1	0	1	0	1	2
<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	1	1	-	1	0	1	0	0	-	2	0	1	0	1	2
<i>Cycloramphus bolitoglossus</i>	0	-	-	0	-	1	0	1	0	0	0	1	0	1	
<i>Cycloramphus boraceiensis</i>	1	4	1	1	1	1	0	0	-	2	0	1	0	1	
<i>Cycloramphus brasiliensis</i>	1	0	-	1	2	1	0	0	-	2	0	1	0	1	
<i>Cycloramphus carvalhoi</i>	1	-	-	0	-	2	0	1	0	?	0	0	0	1	
<i>Cycloramphus catarinensis</i>	1	1	-	0	-	1	0	0	-	2	0	0	0	1	
<i>Cycloramphus cedrensis</i>	1	4	-	1	2	1	0	-	2	0	?	0	1		
<i>Cycloramphus diringshofeni</i>	0	-	-	0	-	1	0	-	2	0	0	0	1		

<i>Cycloramphus dubius</i>	1	2	-	1	1	1	0	-	1	0	1	0	1
<i>Cycloramphus duseni</i>	1	4	-	1	?	1	0	-	?	0	?	0	1
<i>Cycloramphus eleutherodactylus</i>	0	-	-	0	-	1	1	0	1	0	0	0	1
<i>Cycloramphus faustoi</i>	0	-	-	0	-	1	0	-	0	1	1	0	1
<i>Cycloramphus fuliginosus</i>	1	0	-	1	1	1	0	-	2	0	0	0	1
<i>Cycloramphus granulatus</i>	1	0	-	0	-	1	1	0	2	0	1	0	1
<i>Cycloramphus heyeri</i>	0	-	-	0	-	1	1	0	0	0	0	0	1
<i>Cycloramphus izecksohni</i>	1	4	-	1	1	1	0	-	1	0	1	0	1
<i>Cycloramphus juimirim</i>	1	0	-	1	0	1	0	-	1	0	1	0	1
<i>Cycloramphus lithomimeticus</i>	1	0	-	0	-	0	0	-	0	0	0	0	1
<i>Cycloramphus lutzorum</i>	1	4	0	1	1	1	0	-	2	0	1	0	1
<i>Cycloramphus migueli</i>	0	-	-	0	-	1	1	1	0	1	1	0	1

<i>Cycloramphus mirandaribeiroi</i>	1	4	-	1	2	1	0	-	1	0	1	0	1
<i>Cycloramphus ohausi</i>	1	4	-	1	0	1	0	-	0	0	1	1	1
<i>Cycloramphus organensis</i>	2	-	-	0	-	0	0	-	0	0	1	0	1
<i>Cycloramphus parvulus</i>	0	-	-	0	-	2	0	-	?	0	0	0	1
<i>Cycloramphus rhyakonastes</i>	1	4	-	1	0	1	0	-	2	0	1	0	0
<i>Cycloramphus semipalmatus</i>	1	4	-	1	0	1	0	-	2	0	1	0	1
<i>Cycloramphus stejnegeri</i>	0	-	-	0	-	1	1	0	?	0	1	0	1
<i>Cycloramphus valae</i>	1	0	-	0	-	1	1	0	1	0	1	0	1

4.3 Girino

4.3.1 Morfologia oral interna

Teto bucal

Forma geral elíptica, levemente mais longa que larga. Arena pré-nasal sem papilas. Narinas internas elípticas, orientadas transversalmente, sem a presença de válvulas nasais. Arena pós-nasal triangular, com dois pares de papilas pós-nasais alongadas em formato de mão, dispostas obliquamente. Crista medial presente, pequena e cônica. Arena do teto bucal em formato oval, com área central coberta por pústulas arredondadas e espaçadas umas das outras (Figura 15a).

Assoalho bucal

Forma geral de diamante, levemente mais longa que larga. Dois pares de papilas infralabiais: primeiro par curto e cônico, segundo par longo, globoso e papilado. Botão lingual quase circular, pustuloso, com quatro papilas labiais cônicas e pequenas. Arena do assoalho buccal em formato triangular, delimitado por sete papilas cônicas em cada lado, com a terceira papilla bifurcada. Existe uma segunda fileira de papilas orientadas transversalmente, composta por três papilas em cada lado. Presença de muitas pústulas posteriormente à arena do assoalho. Bolso bucal oblíquo. Velum ventral contínuo, com projeções pequenas e irregulares em sua extremidade (Figura 10b).

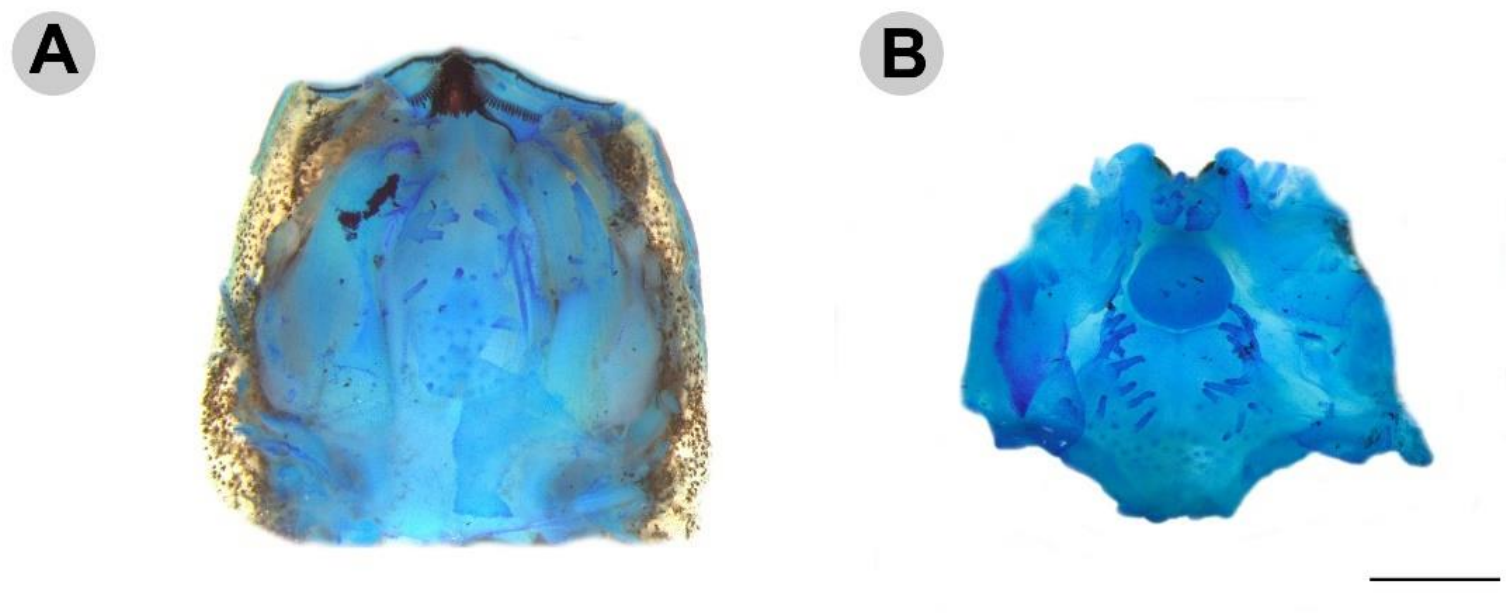
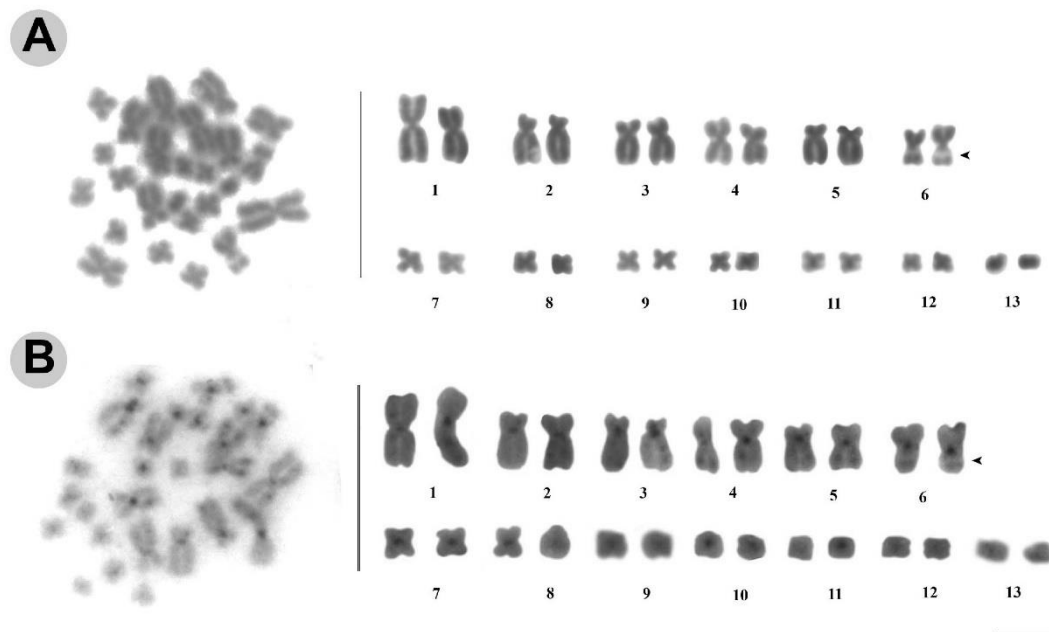


Figura 15. Morfologia oral interna do girino de *Cycloramphus bandeirensis* (lote 431). (A) Teto bucal e (B) assoalho bucal. Escala = 200 μ m.

4.4 Citogenética

4.4.1 Citogenética clássica

Cycloramphus bandeirensis possui $2n = 26$ cromossomos, com número fundamental = 52 (Figura 15a). O cariótipo é composto por 10 pares metacêntricos (1, 4, 6, 7-13), dois pares submetacêntricos (2 e 5) e um par submetlocêntrico (3), com sua fórmula cariotípica sendo $10m + 2sm + 1st$ (Tabela 4). Foi observada a presença de uma constrição secundária na região intersticial do braço longo do par seis. Tratando-se do comprimento relativo dos cromossomos, *C. bandeirensis* apresentou seis pares grandes (1-6) e sete pares pequenos (7-13). Não foram observados cromossomos sexuais heteromórficos. Marcações heterocromáticas centroméricas foram observadas



com a técnica de banda-C (Figura 15b).

Figura 15. Citogenética clássica de *Cycloramphus bandeirensis* ($2n = 26$). (A) coloração com Giemsa, (B) Banda-C mostrando blocos heterocromáticos centroméricos nos cromossomos. Setas apontam para a constrição secundária. Escala = $10\mu\text{m}$.

Tabela 4 - Medidas (em μm) dos cromossomos metafásicos de *Cycloramphus bandeirensis*. Estão representados o comprimento total, razão entre os braços e o desvio padrão.

Par cromossômico	Comprimento braço curto (p)	Comprimento braço longo (q)	Comprimento total	Razão entre os braços (r = q/p)	Classificação do cromossomo
1	3,47 \pm 1,15	5,76 \pm 2,38	8,86 \pm 3,32	1,55 \pm 0,43	m
1	3,46 \pm 1,64	4,74 \pm 1,87	7,86 \pm 3,50	1,29 \pm 0,11	m
2	2,04 \pm 0,94	4,50 \pm 1,78	6,25 \pm 2,69	2,12 \pm 0,29	sm
2	1,65 \pm 0,64	4,63 \pm 1,74	5,96 \pm 2,35	2,58 \pm 0,41	sm
3	1,56 \pm 0,74	4,95 \pm 2,03	6,20 \pm 2,71	3,07 \pm 0,53	st
3	1,58 \pm 0,82	4,72 \pm 2,12	6,01 \pm 2,84	2,94 \pm 0,55	st
4	2,26 \pm 0,93	3,57 \pm 1,28	5,62 \pm 2,17	1,54 \pm 0,22	m
4	2,15 \pm 0,84	3,32 \pm 1,37	5,21 \pm 2,18	1,42 \pm 0,26	m
5	1,55 \pm 0,45	3,48 \pm 1,42	4,88 \pm 1,84	2,08 \pm 0,40	sm
5	1,52 \pm 0,55	3,60 \pm 1,50	4,96 \pm 1,91	2,31 \pm 0,90	sm
6	2,03 \pm 1,03	2,94 \pm 1,18	4,84 \pm 2,19	1,49 \pm 0,26	m

6	2,19±1,07	2,95±1,13	4,95±2,19	1,31±0,16	m
7	1,37±0,57	1,71±0,61	2,98±1,16	1,20±0,22	m
7	1,24±0,66	1,57±0,66	2,71±1,29	1,24±0,19	m
8	1,21±0,48	1,48±0,55	2,65±1,02	1,19±0,13	m
8	1,21±0,47	1,52±0,56	2,69±1,03	1,24±0,13	m
9	1,33±0,56	1,47±0,51	2,73±1,03	1,10±0,18	m
9	1,16±0,45	1,32±0,43	2,45±0,84	1,17±0,26	m
10	1,13±0,49	1,45±0,62	2,52±1,11	1,24±0,13	m
10	1,15±0,54	1,42±0,65	2,53±1,14	1,22±0,19	m
11	1,06±0,52	1,23±0,51	2,24 ±1,01	1,18±0,27	m
11	1,10±0,50	1,28±0,50	2,37±0,99	1,21±0,24	m
12	1,07±0,59	1,30±0,57	2,31±1,14	1,22±0,25	m
12	1,03±0,53	1,31±0,56	2,29±1,07	1,29±0,29	m
13	0,96±0,48	1,17±0,54	2,08±1,01	1,16±0,18	m

13	$0,74 \pm 0,45$	$1,04 \pm 0,46$	$1,74 \pm 0,89$	$1,46 \pm 0,29$	m
----	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	---

4.4.2 Citogenética molecular – FISH

A técnica de Hibridização *in situ* fluorescente (FISH) com a sonda telomérica (TTAGGG)_n apresentou sinais de hibridização na região terminal dos cromossomos, sem marcações intersticiais (Figura 16a). O microssatélite (GA)₁₅ também apresentou sinais de hibridização somente na região terminal dos cromossomos, estando localizado em regiões de eucromatina (Figura 16b). A hibridização da sonda de rDNA 18S coincidiu com a localização da constrição secundária no braço longo do par 6 (Figura 16c).

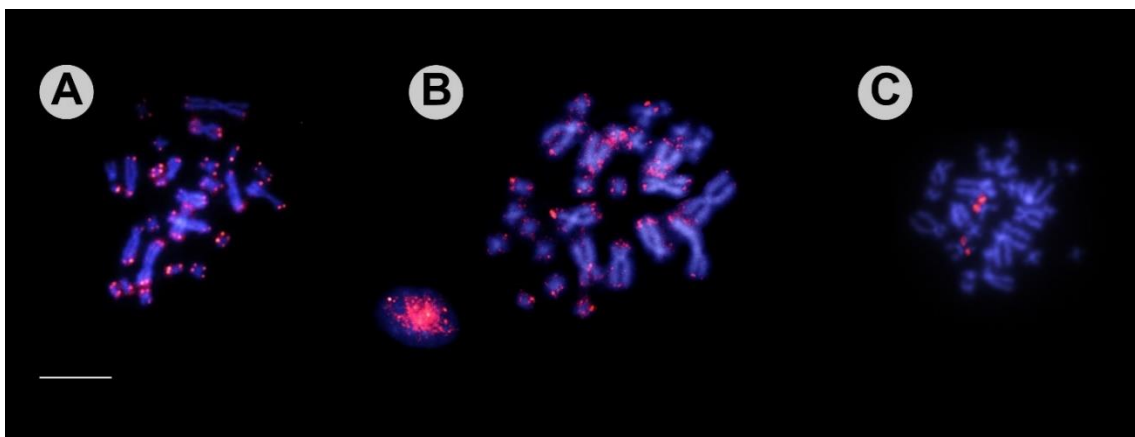


Figura 16. Citogenética molecular de *Cycloramphus bandeirensis*. Metáfases submetidas à técnica de Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH) com as sondas (A) Telomérica (TTAGGG)_n, (B) (GA)₁₅ e (C) rDNA 18S. Escala = 10µm.

5. DISCUSSÃO

5.1 Morfologia

A recharacterização do holótipo de *Cycloramphus bandeirensis* disponibiliza novas informações sobre a morfologia do tipo, deixando-o mais comparável, além de atualizar os estados de caráter de algumas características propostas em sua descrição. Heyer (1983a) descreveu para o holótipo uma “fraca prega tarsal” e durante nossa análise, não conseguimos observar essa característica no exemplar, considerando-a ausente. Também houve divergência quanto extensão da membrana entre os dedos I/II e II/III dos artelhos (I (1_{3/4} - 2_{1/2}) II (2 - 3₊) III em Heyer, 1983a; I (1_{3/4} - 2₊) II (1_{3/4} - 3₊) III neste trabalho). Uma questão também importante para se discutir é o fato de Heyer ter descrito a espécie com base em apenas dois exemplares, designando um juvenil como

holótipo. Isto pode ser problemático, uma vez que podem ocorrer variações ontogenéticas que alteram o estado de caráter, tornando difícil a comparação interespecífica com base somente em informações do holótipo. Este problema de comparação, por exemplo, foi citado no trabalho de descrição de *Cycloramphus juimirim* (Haddad & Sazima, 1989). Devido a esse fato, propomos uma nova diagnose para *Cycloramphus bandeirensis* levando em conta características presentes nos adultos, além de uma comparação atualizada entre as espécies.

As análises de microscopia eletrônica de varredura mostraram que a pele do dorso de *Cycloramphus bandeirensis* é recoberta por glândulas, que são levemente perceptíveis em análise sob a lupa (Figura 17). A grande pressão seletiva causada pela mudança do ambiente aquático para o terrestre durante a evolução dos Tetrapoda fez com que a pele dos anfíbios se tornasse extremamente especializada, responsável pela realização de diversas funções, entre elas a manutenção da osmorregulação (Konig et al., 2015). A pele dos anfíbios é composta por glândulas granulares e mucosas, que produzem veneno, substâncias antimicrobianas e também muco para evitar o ressecamento da pele (Toledo & Jared, 1995; Alvarez et al., 2005). Nos anuros, a perda de água do corpo por evaporação é inversamente proporcional à umidade do ar (Adolph, 1932), e pontos mais altos do Pico da Bandeira no Parque Nacional do Caparaó, onde *C. bandeirensis* é encontrado, podem atingir níveis de umidade relativa do ar de quase 76% devido a substituição de vegetação arbórea pelo o aparecimento de rochedos, que faz com que a incidência solar diretamente no solo aumente a evaporação (Falcão et al., 2010). Com isso, essa quantidade de glândulas na pele de *C. bandeirensis* poderia exercer um papel importante no controle da perda de água e manutenção da umidade da pele, sendo uma possível adaptação para esse tipo de ambiente. Em *Phyllomedusa* são encontradas glândulas que secretam lipídeos e protegem os indivíduos contra a dessecação (Delfino et al., 1998). Estudos histológicos são necessários para investigar a estrutura e a composição das substâncias dessas glândulas em *C. bandeirensis* e se há relação com o tipo de hábitat.



Figura 17. Pele do dorso de *Cycloramphus bandeirensis* sendo possível visualizar as glândulas macroscopicamente.

Ao analisar os demais exemplares de *C. bandeirensis*, foram encontradas variações morfológicas em relação à descrição original. foram observadas três variações da forma do focinho em vista lateral, em contraste com apenas o formato “arredondado” em sua diagnose original (Heyer, 1983a). Os dentes vomerianos podem estar presentes tanto em séries transversais quanto horizontais, e a forma do processo dentífero no qual os dentes estão inseridos também varia. A fórmula da membrana também varia entre os indivíduos e também em relação à descrição original (Tabela 5), I ($1\frac{3}{4}$ - $2\frac{1}{2}$) II (2 - 3+) III ($2\frac{3}{4}$ - 4-), IV ($3\frac{3}{4}$ - 2+) V (*sensu* Heyer, 1983). Na descrição original o tubérculo metatarsal externo é indistinto no holótipo, no entanto observamos que esse caráter pode estar presente em juvenis e adultos. Com base nessas diferenças, fica clara a

importância de uma amostra maior de espécimes para se descrever uma espécie, uma vez que desta pequena quantidade pode-se não abranger toda a variação que ocorre na mesma. Vale ressaltar também que, na descrição de *C. bandeirensis*, somente o CRC do adulto (paratopótipo) e oito medidas do juvenil foram descritas. No presente trabalho ampliamos a caracterização morfométrica, fornecendo 14 medidas (6 novas) tanto de machos quanto de fêmeas, acrescentando a descrição original com dados morfológicos e morfométricos mais robustos. Esses dados podem ser utilizados futuramente em trabalhos de inferência filogenética e evolução dentro do gênero.

Tabela 5 - Fórmula da membrana presente entre os dedos dos pés de exemplares de *Cycloramphus bandeirensis*.

Exemplar	Sexo/Idade*	Fórmula
Descrição original (Heyer, 1983)	I/J	I ($1^{3/4} - 2^{1/2}$) II ($2^- - 3^+$) III ($2^{3/4} - 4^-$) IV ($3^{3/4} - 2^+$) V
MZUFV18662	M/A	I ($1^{1/2} - 2^{1/2}$) II ($2^- - 3^{3/4}$) III ($2^{3/4} - 4^+$) IV ($4^- - 2^+$) V
MZUFV18663	M/A	I ($1^{3/4} - 2^{3/4}$) II ($1^{1/2} - 3^+$) III ($3^- - 4$) IV ($3^{3/4} - 2^+$) V
MZUFV18664	M/A	I ($1^{1/2} - 3^{1/2}$) II ($2^- - 3^+$) III ($2^{3/4} - 4^-$) IV ($4^- - 2^+$) V
MZUFV18665	I/J	I ($2^- - 2^{3/4}$) II ($2 - 3^{1/2}$) III ($3 - 4$) IV ($4^+ - 2^+$) V
MZUFV18666	I/J	I ($2^- - 2^{3/4}$) II ($2 - 3^{1/2}$) III ($3 - 4$) IV ($4^+ - 2^+$) V
MZUFV18667	I/J	I ($1^{3/4} - 2^{3/4}$) II ($2^- - 3^{1/4}$) III ($3 - 3^{3/4}$) IV ($4^+ - 2^+$) V
MZUFV18668	M/A	I ($1^{1/2} - 2^{3/4}$) II ($1^{3/4} - 3^{3/4}$) III ($2^{3/4} - 4^-$) IV ($4^- - 2^{1/2}$) V
MZUFV18669	M/A	I ($1^{3/4} - 2^{3/4}$) II ($2^- - 3^{1/4}$) III ($2^{3/4} - 4^-$) IV ($3^{3/4} - 2^+$) V
MZUFV18670	I/J	I ($1^{1/4} - 2^+$) II ($2^- - 3^{1/2}$) III ($2^{3/4} - 3^{3/4}$) IV ($3^{3/4} - 2$) V
MZUFV18671	I/J	I ($1^{3/4} - 2^{1/2}$) II ($1^{3/4} - 3^+$) III ($3^- - 3^{3/4}$) IV ($3^{3/4} - 2^{1/4}$) V
MZUFV18647	F/A	I ($1^{1/2} - 1^{1/4}$) II ($2^- - 3^{1/4}$) III ($3^- - 4^-$) IV ($4^- - 2^{1/4}$) V
MZUFV18672	F/A	I ($2^- - 2^{1/2}$) II ($2^- - 3^{1/2}$) III ($3^- - 4$) IV ($3^{3/4} - 2^+$) V

*M: Macho; F: Fêmea; I: Indeterminado. A: Adulto; J: Juvenil.

5.2 Dimorfismo sexual

Quanto ao comprimento rostro-cloacal, as fêmeas apresentaram, em média, tamanho maior que os machos, corroborando com os resultados propostos por de Sá e colaboradores (2019) de que há uma tendência de diferença entre tamanho dos sexos em *Cycloramphus*. Entretanto, os tamanhos podem acabar se sobrepondo como demonstrado em nossos resultados, não sendo este o maior grau de dimorfismo encontrado dentro do gênero. Em *Cycloramphus*, a seleção sexual exerce um papel importante sobre o tamanho corporal dos machos e, dessa maneira, os dois sexos são selecionados de forma independente (de Sá, 2019). Algumas espécies saxícolas de *Cycloramphus* apresentam cuidado parental, e muitas vezes realizam comportamentos agressivos para defender suas desovas e território, muitas vezes escasso (Giaretta & Cardoso, 1995; Lima et al., 2010). Esse comportamento agressivo pode levar a seleção de machos maiores devido a uma maior vantagem nos confrontos, consequentemente diminuindo o grau de dimorfismo (Emlen & Oring, 1977; de Sá et al., 2019). Isso pode ser uma explicação para a sobreposição de tamanho encontrada para machos e fêmeas de *C. bandeirensis*. Mesmo que não haja registros desse tipo de comportamento agressivo na espécie estudada, um indivíduo já foi visto guardando a desova (Verdade et al., 2009), podendo este ser um indicativo de cuidado parental. Mais estudos acerca de história natural da espécie se fazem necessários para elucidar essa questão.

A coloração mais escura na região gular dos machos em relação às fêmeas é mais uma característica que pode ser associada ao dimorfismo sexual. Os sinais visuais são importantes durante a comunicação entre indivíduos e já foram descritos para diversos gêneros de anfíbios (Lindquist & Hetherington, 1996; Revisão em Hodl & Amézquita, 2001). Estes sinais podem complementar a vocalização e consequentemente aumentar a capacidade de atração de fêmeas por machos (Rosenthal, Rand & Ryan, 2004), ou até mesmo auxiliar em outros comportamentos como demarcação de território e predação (Hodl & Amézquita, 2001; Hagman & Shine, 2008). Com isso, a coloração escura do queixo de machos de *C. bandeirensis* pode estar relacionada com algum tipo de sinalização visual e poderia ser exposta por meio de comportamentos como “*Throat display*” e/ou “*Upright posture*”, por exemplo. O primeiro consiste no pulsar da região gular, e o último em estender os membros anteriores e levantar a cabeça, podendo ser

realizado tanto em situações de corte ou antagonismo (Hodl & Amézquita, 2001; Hartmann et al., 2004; Hartmann et al., 2005).

Machos adultos, ao contrário das fêmeas, também apresentam glândulas inguinais, sendo esta característica considerada uma sinapomorfia de *Cycloramphus* (Lutz, 1929; Heyer, 1983). Entretanto, este caracter pode estar ausente, como em *C. lithomimeticus* (Silva & Oüvernay, 2012), presente apenas na parte interna do corpo como em *C. organensis* (Weber et al., 2011), ou presentes na forma de um aglomerado glandular como em *C. carvalhoi* e *C. parvulus* (Verdade, 2005). Em algumas espécies de anfíbios os ácinos se aglomeram em locais específicos do corpo, formando macroglândulas como, por exemplo, as glândulas paratoides, paracnêmis, lombares e inguinais (Toledo & Jared, 1995), que exercem funções relacionadas à defesa química (Delfino et al., 1999; Lenzi-Mattos et al., 2005, Jared et al., 2009). Os anuros também podem apresentar glândulas sexualmente dimórficas (Thomas et al., 1993; Brunetti et al., 2012). Os machos de *Oloolygon centralis* por exemplo, possuem uma macroglândula inguinal que acredita-se estar associada à reprodução por meio da produção e dispersão de feromônios (Britto et al., 2019). A função dessa glândula em *Cycloramphus* é pouco conhecida, e um estudo com *C. fuliginosus* sugere que ela tenha participação no controle hídrico ou retenção de secreções cutâneas (Gonçalves & Brito-Gitirana, 2008). No mesmo trabalho, os autores também descrevem que o conteúdo proteico da secreção da glândula pode estar relacionado com atividade microbiana ou liberação de feromônios na água. Devido ao hábitat que *Cycloramphus bandeirensis* se encontra, seria interessante averiguar o conteúdo dessa glândula inguinal e sua possível relação com a reprodução. Seu micro-habitat é restrito e consiste em afloramentos rochosos úmidos com filetes de água corrente, sendo relativamente fácil a dispersão dos feromônios na água se comparado com outras espécies de anuros que habitam riachos ou brejos.

5.3 Variação no padrão de coloração

Em relação aos padrões de coloração, estes variam tanto entre os indivíduos adultos quanto entre os juvenis, além de uma mudança ontogenética bastante perceptível. Heyer (1983a) caracterizou o padrão dorsal de *C. bandeirensis* como um dos mais distintos entre as espécies do gênero. Anfíbios anuros podem apresentar uma grande diversidade de cores (Toledo & Haddad, 2009), e a variação no padrão de coloração é algo

relativamente comum, sendo uma característica presente em pelo menos 48% das famílias existentes (Hoffmann & Blouin, 2000). A mudança ontogenética de coloração é uma variação irreversível que está associada com o desenvolvimento do indivíduo, e mecanismos hormonais podem estar relacionados com essas mudanças (Booth, 1990; Hoffman & Blouin, 2000). Durante o estágio juvenil, *C. bandeirensis* apresenta uma coloração críptica que se assemelha bastante ao ambiente rochoso onde vive (Figura 18). Esse tipo de coloração simula o substrato no qual o animal se encontra, e uma vez que esse substrato não é homogêneo, diferentes padrões cromáticos podem ser gerados (Endler, 1988). A camuflagem também pode ser eficaz na defesa contra predadores, tanto em juvenis quanto adultos de anfíbios (Revisão em Rojas, 2016). Levando isto em consideração, essa pode ser uma explicação para a variação encontrada no padrão dorsal de manchas dos juvenis, além de possivelmente estar associada a uma estratégia que previne a predação. No entanto, mais estudos e testes precisam ser realizados para confirmar esta hipótese.

Além da diferença no padrão dorsal, foi detectada outra diferença em relação a descrição original que é fruto da variação intraespecífica. Heyer descreve para o holótipo que não há presença de barras ou listras no lábio. No entanto, nos juvenis analisados observamos que alguns exemplares apresentam listras e manchas na região dos lábios semelhante ao padrão descrito para outras espécies de *Cycloramphus* (Heyer, 1983a).



Figura 18. Juvenil de *Cycloramphus bandeirensis* em seu hábitat natural. Foto de C. L. Assis.

5.4 Chave taxonômica

Heyer, em seu grande artigo de revisão de *Cycloramphus* em 1983, propôs uma chave taxonômica dicotômica para o gênero. Desde então, 8 novas espécies de *Cycloramphus* foram descritas, além da sinonimização de *Zachaenus*, acarretando em 10 novos terminais que não são identificáveis pela chave, tornando-a desatualizada. São duas as vantagens da chave interativa em relação à dicotômica: (i) a chave interativa permite a adição de novos táxons à longo prazo, podendo ser atualizada sempre que sair uma nova espécie e (ii) permite a identificação de exemplares em estado comprometido de conservação e que apresentam apenas uma parte dos caracteres distinguíveis, pois o usuário pode escolher os caracteres sem uma ordem específica, sendo útil quando se trata de exemplares antigos depositados em coleções. A nova chave aqui disponibilizada evitou ao máximo a utilização de caracteres morfométricos a fim de evitar alocação accidental em um diferente estado de caráter devido ao tamanho relacionado com a idade do indivíduo. Além disso, características relacionadas à coloração também foram evitadas, quando possível, para reduzir subjetividades. Infelizmente, entre *C. rhyakonastes* e *C. semipalmatus* não foi encontrado nenhum outro caráter que os separassem com exceção da coloração do ventre em vida. Isso dificulta a identificação de animais depositados em coleção, sendo este também o último passo da chave de Heyer (1983a) para diferenciação das espécies. Uma nova revisão mais detalhada para o gênero pode fornecer novos caracteres úteis para a diferenciação entre essas espécies, podendo ser incluídos na chave futuramente.

5.5 Morfologia oral interna do girino

Em relação a morfologia oral interna do girino, na literatura existe a descrição dessa estrutura para oito espécies de *Cycloramphus*, sendo elas *C. boraceiensis*, *C. brasiliensis*, *C. izecksohni*, *C. fuliginosus*, *C. lithomimeticus*, *C. lutzorum* e *C. stejnegeri* (Dias et al., 2021). As características gerais da morfologia oral interna do girino de *Cycloramphus bandeirensis* seguiram o padrão encontrado para as outras espécies do gênero, porém com algumas diferenças quanto as papilas. A crista medial em *C. bandeirensis* apresentou uma condição reduzida muito diferente da encontrada nas outras espécies e até mesmo dentro do gênero. Expor a cavidade bucal de mais indivíduos contribuirá para estabelecer se este é o padrão encontrado para a espécie ou

apenas uma variação individual. Não foram observadas papilas laterais da crista no assoalho bucal, contrastando com o encontrado nas outras espécies.

5.6 Citogenética

Aqui descrevemos pela primeira vez o cariótipo de *C. bandeirensis* que apresentou $2n=26$, sendo este número diploide conservado para o gênero (Beçak & Beçak, 1970; Lima et al., 2010; Noletto et al., 2011; Bueno et al., 2021). Esse padrão conservado se expande para a família Cycloramphidae como um todo, uma vez que $2n = 26$ também é encontrado em *Thoropa*, grupo irmão de *Cycloramphus* (Cholak et al., 2020).

Apesar do número diploide ser conservado, variações na morfologia dos cromossomos são encontradas para o gênero (Tabela 6). Dentro de *Cycloramphus*, o número fundamental varia, sendo observadas diferentes fórmulas cariotípicas que incluem desde cromossomos metacêntricos à telocêntricos. Não foram observados pares telocêntricos em *C. bandeirensis*, diferentemente de *C. carvalhoi*, *C. dubius*, *C. eleutherodactylus* e *C. boraceiensis* (Noletto et al., 2011; Guedes et al., 2019; Bueno et al., 2021). *Cycloramphus bandeirensis* apresentou fórmula cariotípica espécie-específica, demonstrando que os caracteres citogenéticos podem contribuir para estudos taxonômicos. Além disso, apesar do número diploide conservado, a variação da fórmula cariotípica indica que rearranjos intracromossômicos possuíram um papel importante no processo de especiação do gênero (Silva et al., 2000; Gazoni et al., 2012)..

A hibridização da sonda de rDNA 18S coincidiu com a localização da constrição secundária no braço longo do par 6 em *C. bandeirensis*, assim como em *C. bolitoglossus*, *C. eleutherodactylus*, *C. lutzorum* e *C. rhyakonastes* (Noletto et al., 2011, Bueno et al., 2021). FISH com o rDNA 18S foi explorado apenas nestas espécies do gênero *Cycloramphus*, e para as demais espécies cariotipadas, foi realizada apenas a técnica de Ag-NOR (Noletto et al., 2011). Em contraste, *C. boraceiensis*, *C. brasiliensis* e *C. heyeri* possuem marcação positiva para NOR no braço longo do mesmo par (Noletto et al., 2011). O padrão mais diferente é encontrado para *C. fuliginosus* (pares 1 e 4) e *C. acangatan* (par 1).

Em relação a heterocromatina, diferente das outras espécies cariotipadas do gênero, a técnica de Banda-C revelou apenas marcações centroméricas em *C. bandeirensis*. As

demais espécies apresentam marcações intersticiais em diferentes pares (Noletto et al., 2011; Bueno et al., 2021). Analisando mais de perto o clado formado por *C. bandeirensis*, *C. fuliginosus*, *C. migueli*, *C. brasiliensis* e *C. bolitoglossus* (de Sá et al., 2019; Figura 20), estas duas últimas espécies compartilham uma grande quantidade de heterocromatina no par 3 (Noletto et al., 2012), e Bueno e colaboradores (2021) propuseram que poderia se tratar de uma homologia entre os cromossomos. *Cycloramphus bandeirensis*, no entanto, não possui este caráter. O bloco heterocromático pode ter sido perdido durante o surgimento de sua linhagem por meio de deleção (Figura 19 – a), ou a expansão da heterocromatina ocorreu de forma independente em *C. brasiliensis* e *C. bolitoglossus*, caso *C. fuliginosus* e *C. migueli* também não apresentem esta condição (Figura 19 – a’). Percebe-se que a Banda-C se mostra uma técnica importante para o estudo da evolução cariotípica em *Cycloramphus*, sendo importante a obtenção deste dado para as demais espécies do grupo afim de esclarecer os padrões evolutivos.

Ainda se tratando do par 3 neste clado, em *C. fuliginosus* e *C. bolitoglossus* ele é submetacêntrico, enquanto em *C. brasiliensis* é metacêntrico e em *C. bandeirensis* é subteloicêntrico. Se considerarmos que em todas as espécies de *Thoropa* cariotipadas até hoje e nas demais espécies cariotipadas de *Cycloramphus* que estão fora deste grupo o par 3 é submetacêntrico (Noletto et al., 2011; Cholak et al., 2020), é provável que esta condição seja a ancestral para este gênero e um caráter plesiomórfico (Figura 19 – b). A mudança na morfologia de submetacêntrico para as formas metacêntricas e subteloicêntricas provavelmente ocorreu devido a inversões pericentroméricas ou reposicionamento do centrômero (Figura 19 – b’). A descrição do cariótipo de *T. bryomantis* se mostra importante para a discussão deste ponto, uma vez que esta linhagem é o grupo irmão de todos os *Cycloramphus* (Sabbag et al., 2018). A descrição de seu cariótipo pode trazer mais informações sobre o estado ancestral de *Cycloramphus*, e, portanto, uma melhor elucidação da história evolutiva cromossômica do grupo como um todo. Além disso, a descrição cariotípica de *C. migueli* se faz imprescindível para um maior entendimento dos processos evolutivos cromossômicos dentro do clado no qual *C. bandeirensis* está inserido.

Cycloramphus bandeirensis e *C. bolitoglossus* são as únicas espécies de *Cycloramphus* na qual o mapeamento da presença, e distribuição de microsatélites por meio de hibridização *in situ* fluorescente foi estudado (Bueno et al., 2021). Com relação

ao microssatélite (GA)₁₅, *C. bandeirensis* apresentou somente marcações na região terminal dos cromossomos, enquanto *C. bolitoglossus* obteve marcações centroméricas nos pares 1 e 2. O enriquecimento de microssatélites em regiões terminais dos cromossomos já foi observado em outras espécies de anuros como *Ololygon* (Peixoto et al., 2015, 2016) e *Pipa* (Zattera et al., 2020), além de outros vertebrados (Cioffi et al., 2012; Oliveira et al., 2017). As marcações centroméricas em *C. bolitoglossus* podem estar relacionadas à rearranjos intracromossômicos, a elementos transponíveis (Ruiz-Ruano et al., 2015) ou serem apenas partes das sequências de DNA satélites encontradas no centrômero (Zattera et al., 2020) (Figura 19 – d). Por outro lado, *C. bandeirensis* pode ter perdido essas sequências centroméricas durante a evolução de seu cariótipo (Figura 19 – d’). Estudar este microssatélite em outras espécies do gênero auxiliaria na compreensão da dinâmica evolutiva dessa sequência repetitiva.

Com relação à sequência telomérica (TTAGGG)_n, as duas espécies apresentam marcações na região terminal, com a diferença de que em *C. bolitoglossus* é possível distinguir bandas intersticiais no braço curto dos pares 1, 2, 7 e 10, e no braço longo dos pares 4 e 5. Sequências teloméricas intersticiais (STIs) são usualmente associadas com eventos de fissão/fusão ancestrais ou rearranjos intracromossômicos (Pellegrino et al., 1999; Ventura et al., 2006; Tsipouri et al., 2008 Ventura et al., 2009) e, em anfíbios, fornecem evidências sobre o processo de redução do número diploide em *Dendropsophini* (Suárez et al., 2013). Em *Cycloramphus*, como o número cariotípico é conservado até mesmo em nível de família, é improvável que as STIs encontradas em *C. bolitoglossus* correspondam à eventos de fissão ou fusão ancestrais. Além disso, as STIs não estão colocalizadas com regiões de heterocromatina, provavelmente também não podendo ser explicadas pelo processo de expansão da heterocromatina, como em *Aplastodiscus* Lutz, 1950 (Carvalho et al., 2009). A localização em regiões eucromáticas dessas marcações contrasta com o encontrado em outros vertebrados (Meyne et al., 1990) e é uma condição peculiar dos anfíbios (Schmid & Steinlein, 2016). Essas STIs podem ser melhor explicadas pela ocorrência de rearranjos intracromossômicos como inversões paracêntricas, associação com elementos transponíveis ou ampliações independentes das sequências teloméricas (Figura 19 – c) (Garagna et al., 1997; Schmid & Steinlein, 2016) como no caso de *Phyllomedusideos* (Bruschi et al., 2014; Ernetti et al., 2019). O estudo de microssatélites em espécies mais

estritamente relacionadas dentro do gênero pode auxiliar em uma maior compreensão e estabelecimento de hipótese evolutiva mais robusta.

Tabela 6- Fórmulas cariotípicas descritas para as espécies de *Cycloramphus*.

Espécie	Número fundamental	Fórmula cariotípica (Número de pares)	Fonte
<i>Cycloramphus acangatan</i>	N = 52	7m+5sm+2st	Noletto et al., 2011
<i>Cycloramphus asper</i>	N = 52	9m + 4sm	Beçak & Beçak, 1970
<i>Cycloramphus bolitoglossus</i>	N = 52	11m + 2sm	Bueno et al., 2021
<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	N = 52	10m+2sm+1 st	Presente trabalho
<i>Cycloramphus brasiliensis</i>	N = 52	10m+3sm	Noletto et al., 2011
<i>Cycloramphus boraceiensis</i>	N = 50	8m+4sm+1t	Noletto et al., 2011
<i>Cycloramphus carvalhoi</i>	N = 50	9m+3sm+1t	Noletto et al., 2011
<i>Cycloramphus dubius</i>	N = 50	7m+5sm+1t	Beçak & Beçak, 1970
<i>Cycloramphus eleutherodactylus</i>	N = 50	8m+4sm+1t	Noletto et al., 2011
<i>Cycloramphus fuliginosus</i>	N = 52	6m+5sm+2st	Noletto et al., 2011
<i>Cycloramphus lutzorum</i>	N = 52	9m+4sm	Lima et al., 2010; Noletto et al., 2011
<i>Cycloramphus rhyakonastes</i>	N = 52	10m+3sm	Noletto et al., 2011

m - metacêntrico; sm - submetacêntrico; st - subtelocêntrico; t - telocêntrico

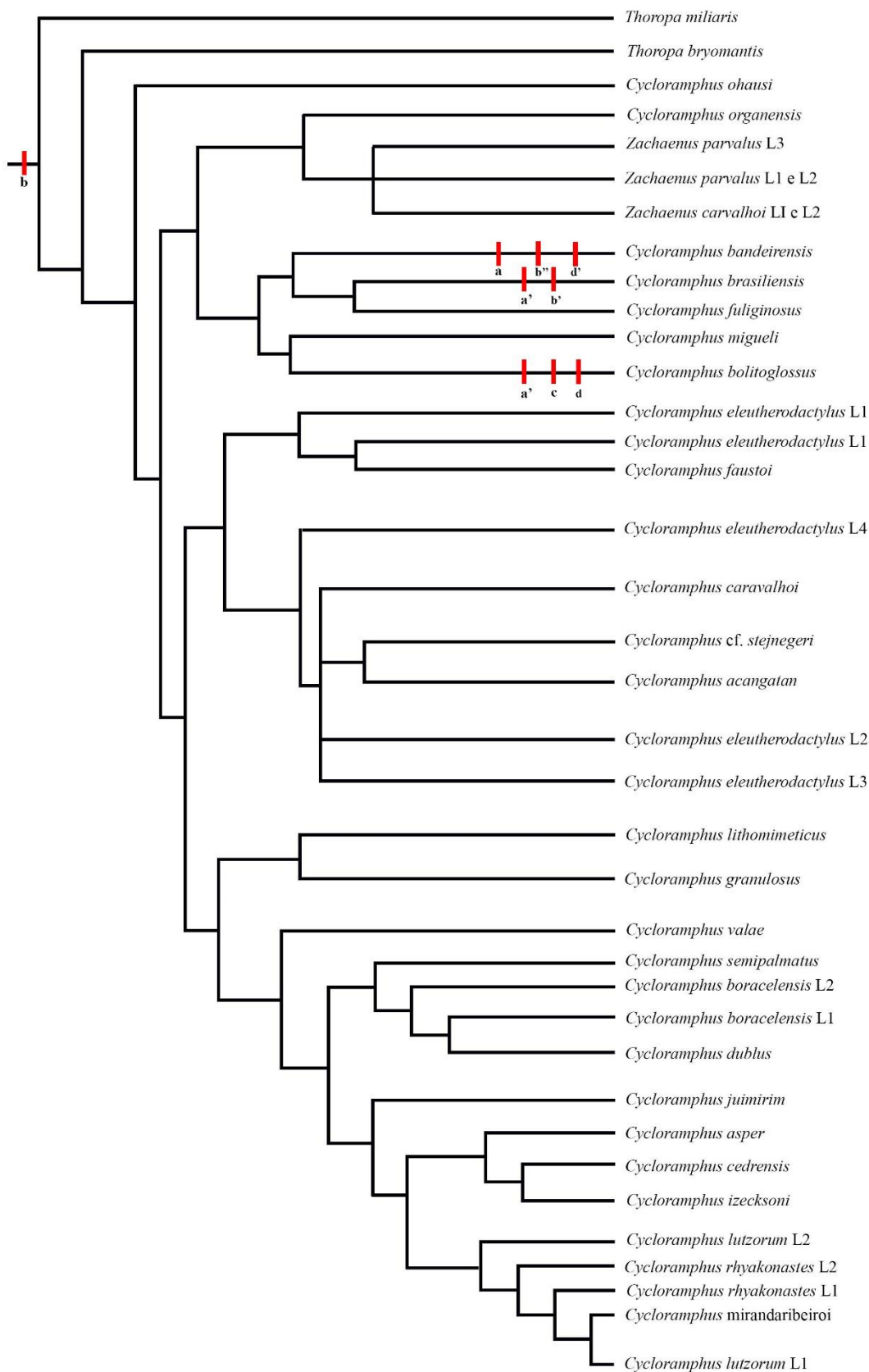


Figura 19: Árvore filogenética de *Cycloramphus* adaptada de Sabbag et al., 2018 e de Sá et al., 2019 demonstrando as mudanças evolutivas do cariótipo de *Cycloramphus*. a: hipótese de deleção do bloco heterocromático no par 3 de *Cycloramphus bandeirensis* de forma independente. a': surgimento

independente do bloco heterocromático no par 3 de *C. bolitoglossus* e *C. fuliginosus* por meio da amplificação de heterocromatina constitutiva nas duas espécies. b: indica a hipótese do par 3 submetacêntrico como condição ancestral de *Cycloramphus*, caso *Thoropa bryomantis* também apresente essa condição. b': indica a transformação de forma independente do par 3 para metacêntrico em *C. brasiliensis* por meio de inversão pericentromérica. b'': indica a transformação de forma independente do par 3 para subteloentrico em *C. bandeirensis*, por meio de inversão pericentromérica. c: indica a hipótese de que inversões paracentroméricas ou associação da sequência telomérica com elementos transponíveis foram responsáveis pelo aparecimento de STIs em *C. bolitoglossus*. d: indica a hipótese de que as marcações centroméricas em *C. bolitoglossus* surgiram relacionadas à rearranjos intracromossômicos, elementos transponíveis ou serem apenas partes das sequências de DNA satélites encontradas no centrômero. d': indica a hipótese de *C. bandeirensis*, por outro lado, perdeu as sequências repetitivas do microssatélite (GA)₁₅ no centrômero ao longo da evolução de seu cariótipo.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi realizado um estudo morfológico e cariotípico acerca da espécie *Cycloramphus bandeirensis*. Com relação à parte morfológica, foi feita a recharacterização do holótipo, a primeira caracterização morfológica e morfométrica dos adultos da espécie, incluindo machos e fêmeas, e a descrição da morfologia oral interna de seus girinos. Os caracteres presentes na descrição original foram atualizados e novos caracteres foram incluídos, permitindo o estabelecimento de uma nova diagnose para a espécie. Além disso, foram apontadas as variações existentes entre os indivíduos de *C. bandeirensis*, incluindo as diferenças entre juvenis e adultos, e machos e fêmeas. Uma nova chave de identificação interativa foi disponibilizada para o gênero, com a adição de novos caracteres e a inclusão de 10 novas espécies. Este trabalho também disponibiliza o número cariotípico de *Cycloramphus bandeirensis* ($2n = 26$) e sua morfologia cromossômica (10m + 2sm + 1st). As técnicas de citogenética clássica, juntamente com as técnicas moleculares de mapeamento de microssatélites forneceram dados que podem contribuir para um maior entendimento da evolução cariotípica do gênero. A obtenção dos dados morfológicos e cariomorfológicos, permitem uma melhor delimitação específica e uma melhor comparação com as demais espécies do gênero, evitando futuros problemas taxonômicos, além de contribuir para a compreensão da evolução dos cariótipos do grupo.

7. REFERÊNCIAS

- ADOLPH, Edward F.. The Vapor Tension Relations of Frogs. **Biological Bulletin**, S.I, v. 62, n. 1, p. 112-125, fev. 1932.
- ALVAREZ, Blanca Beatriz; DELFINO, Giovanni; NOSI, Daniele; TERRENI, Alessandro. Ultrastructure of poison glands of South American frogs: a comparison between *Physalaemus albonotatus* and *Leptodactylus chaquensis* (Anura). **Journal Of Morphology**, [S.L.], v. 263, n. 2, p. 247-258, 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmor.10301>.
- BAGSHAW, Andrew T.M.. Functional Mechanisms of Microsatellite DNA in Eukaryotic Genomes. **Genome Biology And Evolution**, [S.L.], v. 9, n. 9, p. 2428-2443, 24 ago. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/gbe/evx164>.
- BEÇAK, Maria Luiza; DENARO, L.; BEÇAK, W.. Polyploidy and mechanisms of karyotypic diversification in Amphibia. **Cytogenetic And Genome Research**, v. 9, n. 4, p. 225-238, 1970. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000130093>.
- BISCOTTI, Maria Assunta; OLMO, Ettore; HESLOP-HARRISON, J. S.. Repetitive DNA in eukaryotic genomes. **Chromosome Research**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 415-420, set. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10577-015-9499-z>.
- BOOTH, Carey L.. Evolutionary significance of ontogenetic colour change in animals. **Biological Journal Of The Linnean Society**, v. 40, n. 2, p. 125-163, jun. 1990. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8312.1990.tb01973.x>.
- BRITO, Pedro; TARGUETA, Cíntia P.; ARRUDA, Walquíria; SANTOS, Fernanda; BASTOS, Rogério. The sexual dimorphic inguinal glands of the frog species *Oligodon centralis* (Anura: hylidae) at light and transmission electron microscopy. **Zoologia**, [S.L.], v. 36, p. 1-9, 5 jul. 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.3897/zoologia.36.e29356>.
- BRUNETTI, Andrés E.; HERMIDA, Gladys N.; FAIVOVICH, Julián. New insights into sexually dimorphic skin glands of anurans: the structure and ultrastructure of the mental and lateral glands in *Hypsiboas punctatus* (Amphibia). **Journal Of Morphology**, [S.L.], v. 273, n. 11, p. 1257-1271, 18 jul. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmor.20056>.
- BRUSCHI, Daniel Pacheco; RIVERA, Miryan; LIMA, Albertina Pimentel; ZÑIGA, Ailín Blasco; RECCO-PIMENTEL, Shirlei Maria. Interstitial Telomeric Sequences (ITS) and major rDNA mapping reveal insights into the karyotypical evolution of Neotropical leaf frogs species (Phyllomedusa, Hylidae, Anura). **Molecular Cytogenetics**, [S.L.], v. 7, n. 1, 6 mar. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1755-8166-7-22>.
- BUENO, Gislayne de Paula; GATTO, Kaleb Pretto; GAZOLLA, Camilla Borges; LEIVAS, Peterson T.; STRUETT, Michelle M.; MOURA, Maurício; BRUSCHI, Daniel Pacheco. Cytogenetic characterization and mapping of the repetitive DNAs in *Cycloramphus bolitoglossus* (Werner, 1897): more clues for the chromosome evolution in the genus *Cycloramphus* (Anura, Cycloramphidae). **Plos One**, v. 16, n. 1, p. 1-20, 13

jan. 2021. Public Library of Science (PLoS).
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0245128>.

CARVALHO, K.A.; GARCIA, P.C.A.; RECCO-PIMENTEL, S.M.. NOR Dispersion, Telomeric Sequence Detection in Centromeric Regions and Meiotic Multivalent Configurations in Species of the *Aplastodiscus albofrenatus* Group (Anura, Hylidae). **Cytogenetic And Genome Research**, [S.L.], v. 126, n. 4, p. 359-367, 2009. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000264179>.

CHARLESWORTH, Brian; SNIEGOWSKI, Paul; STEPHAN, Wolfgang. The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. **Nature**, [S.L.], v. 371, n. 6494, p. 215-220, 15 set. 1994. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/371215a0>.

CHOLAK, Luiza Rieder; HADDAD, Célio F. B.; PARISE-MALTEMPI, Patrícia P.. Cytogenetic analysis of the genus *Thoropa* Cope, 1865 (Anura-Cycloramphidae) with evolutionary inferences based on repetitive sequences. **Genetics And Molecular Biology**, v. 43, n. 3, p. 1-9, jun. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2019-0364>.

CIOFFI, M.B.; BERTOLLO, L.A.C.. Chromosomal Distribution and Evolution of Repetitive DNAs in Fish. **Genome Dynamics**, [S.L.], p. 197-221, 2012. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000337950>.

CUEVAS, César C.. A new species of the genus *Alsodes* (Anura: Neobatrachia) from the Nothofagus forest, Coastal Range, Southern Chile, identified by its karyotype. **Zootaxa**, v. 1771, n. 0, p. 43-53, 19 maio 2008.

DELFINO, G.; BRIZZI, R.; ALVAREZ, B.B.; GENTILI, M.. Granular cutaneous glands in the frog *Physalaemus biligonigerus* (Anura, Leptodactylidae): comparison between ordinary serous and "inguinal" glands. **Tissue And Cell**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 576-586, dez. 1999. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1054/tice.1999.0071>.

DELFINO, G.; BRIZZI, R.; ALVAREZ, B.B.; KRACKE-BERNDORFF, R.. Serous cutaneous glands in *Phyllomedusa hypochondrialis* (Anura, Hylidae): secretory patterns during ontogenesis. **Tissue And Cell**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 30-40, fev. 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0040-8166\(98\)80004-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0040-8166(98)80004-9).

DIAS, Pedro Henrique Santos; CANDIOTI, Florencia Vera; SABBAG, Ariadne Fares; COLAÇO, Gustavo; SILVA, Hélio Ricardo; HADDAD, Célio F. Baptista; CARVALHO-E-SILVA, Ana Maria Paulino Telles; GRANT, Taran. Life on the edge: tadpoles of cycloramphidae (amphibia; anura), anatomy, systematics, functional morphology, and comments on the evolution of semiterrestrial tadpoles. **Journal Of Zoological Systematics And Evolutionary Research**, [S.L.], v. 59, n. 6, p. 1297-1321, 15 jun. 2021. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1111/jzs.12483>.

DUBOIS, Alain; OHLER, Annemarie; PYRON, Alexander. New concepts and methods for phylogenetic taxonomy and nomenclature in zoology, exemplified by a new ranked cladonomy of recent amphibians (Lissamphibia). **Megataxa**, s, v. 5, n. 1, p. 01-738, fev. 2021.

EMLEN, Stephen T.; ORING, Lewis W.. Ecology, Sexual Selection, and the Evolution of Mating Systems. **Science**, v. 197, n. 4300, p. 215-223, jul. 1977.

ENDLER, J. A.; GREENWOOD, D. J. J. D.. Frequency-Dependent Predation, Crypsis and Aposematic Coloration. **Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London**, v. 319, n. 1196, p. 505-523, jul. 1988.

ERNETTI, Julia R.; GAZOLLA, Camilla B.; RECCO-PIMENTEL, Shirlei M.; LUCA, Elaine M.; BRUSCHI, Daniel P.. Non-random distribution of microsatellite motifs and (TTAGGG)_n repeats in the monkey frog *Pithecopus rusticus* (Anura, Phyllomedusidae) karyotype. **Genetics And Molecular Biology**, [S.L.], v. 42, n. 4, p. 1-7, Não é um mês válido! 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2019-0151>.

FALCÃO, Rita Monteiro; GALVANI, Emerson; LIMA, Nádia Gilma Beserra de; CRUZ., Bárbara Renata Pereira. ANÁLISE DA VARIAÇÃO DA UMIDADE RELATIVA DO AR DO PICO DA BANDEIRA, PARQUE NACIONAL ALTO CAPARAÓ, BRASIL. **VI Seminário Latino-Americano de Geografia Física: II Seminário Ibero-Americano de Geografia Física**, Universidade de Coimbra, p. 1-10, maio 2010.

FROST, Darrel R.. **Amphibians Species of the World: an online reference**. 2022. Versão 6.1. Disponível em: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/>. Acesso em: 05 janeiro 2022.

GARAGNA, Silvia; RONCHETTI, Elena; MASCHERETTI, Silvia; CROVELLA, Sergio; FORMENTI, Daniele; RUMPLER, Yves; ROMANINI, Maria G. Manfredi. Non-telomeric chromosome localization of (TTAGGG)_n repeats in the genus *Eulemur*. **Chromosome Research**, [S.L.], v. 5, n. 7, p. 487-491, 1997. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1018425215516>.

GAZONI, Thiago; GRUBER, Simone L; SILVA, Ana Pz; ARAËJO, Olivia Gs; NARIMATSU, Hideki; STRÜSSMANN, Christine; HADDAD, Célio Fb; KASAHARA, Sanae. Cytogenetic analyses of eight species in the genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1843 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae), including a new diploid number and a karyotype with multiple translocations. **Bmc Genetics**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 109, 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2156-13-109>.

GAZONI, Thiago; LYRA, Mariana L.; RON, Santiago R.; STRÜSSMANN, Christine; BALDO, Diego; NARIMATSU, Hideki; PANSONATO, André; SCHNEIDER, Rosío G.; GIARETTA, Ariovaldo A.; HADDAD, Célio F.B.. Revisiting the systematics of the *Leptodactylus melanonotus* group (Anura: leptodactylidae). **Zoologischer Anzeiger**, [S.L.], v. 290, p. 117-134, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcz.2020.12.002>.

GIARETTA, Ariovaldo; CARDOSO, Adão J. Reproductive behavior of *Cycloramphus dubius* Miranda-Ribeiro (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 233-237, 1995. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-81751995000200002>.

GONÇALVES, Vanessa Figueira; BRITO-GITIRANA, Lycia de. Structure of the sexually dimorphic gland of *Cycloramphus fuliginosus* (Amphibia, Anura, Cycloramphidae). **Micron**, v. 39, n. 1, p. 32-39, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2007.08.005>.

HADDAD, Célio F. B.; SAZIMA, Ivan. A New Species of *Cycloramphus* from Southeastern Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). **Herpetologica**, S. I, v. 45, n. 4, p. 425-429, dez. 1989.

HAGMAN, Mattias; SHINE, Richard. Deceptive digits: the functional significance of toe waving by cannibalistic cane toads, *Rhinophrynus dorsalis*. **Animal Behaviour**, v. 75, n. 1, p. 123-131, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.04.020>. 44

HARTMANN, Marília T.; GIASSON, Luis O. M.; HARTMANN, Paulo A.; HADDAD, Célio F. B.. Visual communication in Brazilian species of anurans from the Atlantic forest. **Journal Of Natural History**, v. 39, n. 19, p. 1675-1685, set. 2005. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00222930400008744>.

HARTMANN, Paulo; HARTMANN, Marília; HADDAD, Célio. Visual signaling and reproductive biology in a nocturnal treefrog, genus *Hyla* (Anura: hylidae). **Amphibia-Reptilia**, v. 25, n. 4, p. 395-406, 2004. Brill. <http://dx.doi.org/10.1163/1568538042788933>.

HEYER, William R. Variation and Systematics of frogs of the genus *Cycloramphus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Arquivos de Zoologia**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 235-339, jul. 1983. HODL, Walter; AMÉZQUITA, Adolfo. Visual Signaling in Anuran Amphibians. In: RYAN, M. J. (ed.). **Anuran Communication**. Washington: Smithsonian Institution Press, 2001. Cap. 10. p. 121-141.

HEYER, William R.; CROMBIE, Ronald I. Natural history notes on *Craspedoglossa stejnegeri* and *Thoropa petropolitana* (Amphibia: Salientia, Leptodactylidae). **Journal Of The Washington Academy Of Sciences**, v. 69, n. 1, p. 17-20, 1979.

Heyer, William. R. Notes on the frog genus *Cycloramphus* (Amphibia: Leptodactylidae), with descriptions of two new species. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 96, p. 548-559, 1983.

HODL, Walter; AMÉZQUITA, Adolfo. Visual Signaling in Anuran Amphibians. In: RYAN, M. J. (ed.). **Anuran Communication**. Washington: Smithsonian Institution Press, 2001. Cap. 10. p. 121-141.

HOFFMAN, Ekic A.; BLOUIN, D Michael S.. A review of colour and pattern polymorphisms in anurans. **Biological Journal Of Linnean Society**, v. 70, n. 0, p. 633-665, 2000.

IJDO, J.W.; WELLS, R.A.; BALDINI, A.; REEDERS, S.T.. Improved telomere detection using a telomere repeat probe (TTAGGG)_n generated by PCR. **Nucleic Acids Research**, [S.L.], v. 19, n. 17, p. 4780-4780, 1991. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/nar/19.17.4780>.

JARED, Carlos; ANTONIAZZI, Marta M.; JORDÃO, Amarildo E.C.; SILVA, José Roberto M.C.; GREVEN, Hartmut; RODRIGUES, Miguel T.. Parotoid macroglands in toad (*Rhinella jimi*): their structure and functioning in passive defence. **Toxicon**, [S.L.], v. 54, n. 3, p. 197-207, set. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.03.029>.

KING, Max; ROFE, Ruth. Karyotypic variation in the Australian Gekko *Phyllodactylus marmoratus* (Gray) (Gekkonidae: reptilia). **Chromosoma**, [S.L.], v. 54, n. 1, p. 75-87,

1976. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/bf00331835>.

KÖNIG, Enrico; BININDA-EMONDS, Olaf R.P.; SHAW, Chris. The diversity and evolution of anuran skin peptides. **Peptides**, [S.L.], v. 63, p. 96-117, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2014.11.003>.

LENZI-MATTOS, R.; ANTONIAZZI, M. M.; HADDAD, C. F. B.; TAMBOURGI, D. V.; RODRIGUES, M. T.; JARED, C.. The inguinal macroglands of the frog *Physalaemus nattereri* (Leptodactylidae): structure, toxic secretion and relationship with deimatic behaviour. **Journal Of Zoology**, [S.L.], v. 266, n. 4, p. 385-394, ago. 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1017/s095283690500703x>.

LEVAN, Albert; FREDGA, Karl; SANDBERG, Avery A.. NOMENCLATURE FOR CENTROMERIC POSITION ON CHROMOSOMES. **Hereditas**, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 201-220, 2 set. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x>.

LIMA, André M. X.; GAREY, Michel V.; NOLETO, Rafael B.; VERDADE, Vanessa K.. Natural History of the Lutz's Frog *Cycloramphus lutzorum* Heyer, 1983 (Anura: cycloramphidae) in the brazilian atlantic forest. **Journal Of Herpetology**, v. 44, n. 3, p. 360-371, set. 2010. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. <http://dx.doi.org/10.1670/08-185.1>.

LINDQUIST, Erik D.; HETHERINGTON, Thomas E.. Field Studies on Visual and Acoustic Signaling in the. **Journal Of Herpetology**, v. 30, n. 3, p. 347, set. 1996. JSTOR. <http://dx.doi.org/10.2307/1565171>.

LOURENÇO, L. B.; BACCI-JÔNOR, M.; MARTINS, V. G.; RECCO-PIMENTEL, S. M.; HADDAD, C. F. B.. Molecular phylogeny and karyotype differentiation in *Paratelmatoobius* and *Scythrophrys* (Anura, Leptodactylidae). **Genetica**, [S.L.], v. 132, n. 3, p. 255-266, 31 jul. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-007-9169-y>.

LUTZ, Adolpho. Taxonomia e Biologia do gênero *Cycloramphus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 5-16, 1929.

Martins C, Cabral-de-Mello DC, Valente GT, Mazzuchelli J, Oliveira SG, Pinhal D. Animal genomes under the focus of cytogenetics. Nova Science, New York, USA. 2011.

MEDEIROS, L. R.. Chromosomal Differentiation of *Hyla nana* and *Hyla sanborni* (Anura, Hylidae) With a Description of NOR Polymorphism in *H. nana*. **Journal Of Heredity**, [S.L.], v. 94, n. 2, p. 149-154, 1 mar. 2003. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jhered/esg019>.

MEYNE, Julianne; BAKER, Robert J.; HOBART, Holly H.; HSU, T. C.; RYDER, Oliver A.; WARD, Oscar G.; WILEY, John E.; WURSTER-HILL, Doris H.; YATES, Terry L.; MOYZIS, Robert K.. Distribution of non-telomeric sites of the (TTAGGG)_n telomeric sequence in vertebrate chromosomes. **Chromosoma**, [S.L.], v. 99, n. 1, p. 3-10, abr. 1990. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01737283>.

NOLETO, Rafael Bueno; AMARO, Renata Cecília; VERDADE, Vanessa Kruth; CAMPOS, João Reinaldo Cruz; GALLEGO, Luiz Fernando Kraft; LIMA, André Magnani Xavier de; CESTARI, Marta Margarete; KASAHARA, Sanae; YONENAGA-YASSUDA, Yatiyo; RODRIGUES, Miguel Trefaut. Comparative cytogenetics of eight species of Cycloramphus (Anura, Cycloramphidae). **Zoologischer Anzeiger - A Journal Of Comparative Zoology**, v. 250, n. 3, p. 205-214, set. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcz.2011.04.001.45>

NUNES-DE-ALMEIDA, Carlos Henrique Luz; HADDAD, Célio Fernando Batista; TOLEDO, Luís Felipe. A revised classification of the amphibian reproductive modes. **Salamandra: German Journal of Herpetology**, S. I., v. 57, n. 3, p. 413-427, 15 ago. 2021.

OLIVEIRA, Eder Jorge; PÁDUA, Juliano Gomes; ZUCCHI, Maria Imaculada; VENCOVSKY, Roland; VIEIRA, Maria Lúcia Carneiro. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics And Molecular Biology**, [S.L.], v. 29, n. 2, p. 294-307, 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-47572006000200018>.

PEIXOTO, Marco Antônio A.; OLIVEIRA, Marina P.C.; FEIO, Renato N.; DERGAM, Jorge A.. Karyological study of *Ololygon tripui* (Loureço, Nascimento and Pires, 2009), (Anura, Hylidae) with comments on chromosomal traits among populations. **Comparative Cytogenetics**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 505-516, 10 out. 2016. Pensoft Publishers. <http://dx.doi.org/10.3897/compcytogen.v10i4.9176>.

PEIXOTO, Marco Antônio Amorim; LACERDA, João Victor Andrade; COELHO-AUGUSTO, Carolina; FEIO, Renato Neves; DERGAM, Jorge Abdala. The karyotypes of five species of the *Scinax perpusillus* group (Amphibia, Anura, Hylidae) of southeastern Brazil show high levels of chromosomal stabilization in this taxon. **Genetica**, [S.L.], v. 143, n. 6, p. 729-739, 23 out. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-015-9870-1>.

PELLEGRINO, Katia Cristina Machado; RODRIGUES, Miguel Trefaut; YONENAGA-YASSUDA, Yatiyo. Chromosomal Evolution in the Brazilian Lizards of Genus *Leposoma* (Squamata, Gymnophthalmidae) from Amazon and Atlantic Rain Forests: banding patterns and fish of telomeric sequences. **Hereditas**, [S.L.], v. 131, n. 1, p. 15-21, 6 maio 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5223.1999.00015.x>.

PEREIRA J.O.P. **Diversidade genética da abelha sem ferrão *Melipona quinquefasciata* baseada 1586 no sequenciamento das regiões ITS1 parcial e 18S do DNA ribossômico nuclear**. 2006. 141 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

PINKEL D., STRAUME T., GRAY J.W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 83, p. 2934-2938, 1986.

ROJAS, Bibiana. Behavioural, ecological, and evolutionary aspects of diversity in frog colour patterns. **Biological Reviews**, v. 92, n. 2, p. 1059-1080, 28 mar. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/brv.12269>.

ROKOTOARISON, Andolalao et al. Describing the smaller majority: integrative taxonomy reveals twenty-six new species of tiny microhylid frogs (genus *Stumpffia*)

from

Madagascar. **Vertebrate Zoology**, v. 67, n. 3, p. 271-398, 28 nov. 2017.

ROSENTHAL, Gil G.; RAND, A. Stanley; RYAN, Michael J.. The vocal sac as a visual cue in anuran communication: an experimental analysis using video playback. **Animal Behaviour**, v. 68, n. 1, p. 55-58, jul. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2003.07.013>.

ROSSA-FERES, Denise de C.; GAREY, Michel Varajão; CARAMASCHI, Ulisses... HADDAD, F. B. Célio. Anfíbios da Mata Atlântica: Lista de Espécies, Histórico dos Estudos, Biologia e Conservação. *In*: MONTEIRO-FILHO, Emygdio Leite de Araújo; CONTE, Carlos Eduardo (org.). **Revisões em Zoologia: Mata Atlântica**. Curitiba: Editora Ufpr, 2018. p. 237-314.

RUIZ-RUANO, Francisco J.; CUADRADO, Ángeles; MONTIEL, Eugenia E.; CAMACHO, Juan Pedro M.; LÓPEZ-LEÓN, María Dolores. Next generation sequencing and FISH reveal uneven and nonrandom microsatellite distribution in two grasshopper genomes. **Chromosoma**, [S.L.], v. 124, n. 2, p. 221-234, 12 nov. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00412-014-0492-7>.

SÁ, Fábio P. de; HADDAD, Célio F. B.; GRAY, Miranda M.; VERDADE, Vanessa K.; THOMÉ, Maria Tereza C.; RODRIGUES, Miguel T.; ZAMUDIO, Kelly R.. Male-male competition and repeated evolution of terrestrial breeding in Atlantic Coastal Forest frogs*. **Evolution**, [S.L.], v. 74, n. 2, p. 459-475, 19 nov. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/evo.13879>.

SABBAG, Ariadne F.; LYRA, Mariana L.; ZAMUDIO, Kelly R.; HADDAD, Célio F.B.; FEIO, Renato N.; LEITE, Felipe S.F.; GASPARINI, João Luiz; BRASILEIRO, Cinthia A.. Molecular phylogeny of Neotropical rock frogs reveals a long history of vicariant diversification in the Atlantic forest. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, [S.L.], v. 122, p. 142-156, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2018.01.017>.

SAVAGE, Jay M.; HEYER, W. Ronald. Variation and distribution in the tree-frog genus *Phyllomedusa* in Costa Rica, central America. **Beitrag Zur Neotropischen Fauna**, [S.L.], v. 5, n. 2, p. 111-131, 1 ago. 1967. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/01650526709360400>.

SCHLÖTTERER, Christian. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromosoma**, [S.L.], v. 109, n. 6, p. 365-371, set. 2000. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s004120000089>.

SCHMID, M. Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. **Chromosoma**, v. 66, p. 361-88, 1978.

SCHMID, Michael; STEINLEIN, Claus. Chromosome Banding in Amphibia. XXXIV. Intrachromosomal Telomeric DNA Sequences in *Anura*. **Cytogenetic And Genome Research**, [S.L.], v. 148, n. 2-3, p. 211-226, 2016. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000446298>.

SEGALLA, Magno V.; CARAMASCHI, Ulisses; CRUZ, Carlos Alberto Gonçalves; GARCIA, Paulo Christiano de Anchietta; GRANT, Taran; HADDAD, Célio F. B.;

SANTANA, Diego J.; TOLEDO, Luís Felipe; LANGONE, José A.. Brazilian Amphibians: List of Species. **Herpetologia Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 65-96, abr. 2019.

SILVA, A P; HADDAD, C F; KASAHARA, S. Chromosomal studies on five species of the genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Amphibia, Anura) using differential staining. **Cytobios**, S. I., v. 103, n. 402, p. 25-38, 01 jan. 2000.

SILVA, David S. da; SILVA FILHO, Heriberto F. da; CIOFFI, Marcelo B.; OLIVEIRA, Edivaldo H.C. de; GOMES, Anderson J.B.. Comparative Cytogenetics in Four *Leptodactylus* Species (Amphibia, Anura, Leptodactylidae): evidence of inner chromosomal diversification in highly conserved karyotypes. **Cytogenetic And Genome Research**, [S.L.], v. 161, n. 1-2, p. 52-62, 2021. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000515831>.

SILVA, Helio Ricardo da; OUVERNAY, Daiane. A new species of stream-dwelling frog of the genus *Cycloramphus* (Anura, Cycloramphidae) from the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Zootaxa**, [s.l.], v. 3407, n. 1, p.49-60, 2 ago. 2012. Magnolia Press. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3407.1.4>.

SILVANO, Débora; HEYER, Ronald. *Cycloramphus bandeirensis*. The IUCN Red List of Threatened Species. 2004. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/species/56358/11452655>. Acesso em: 07 mar. 2020.

SIQUEIRA, Sérgio; AGUIAR JUNIOR, Odair; PANSONATO, André; GIARETTA, Ariovaldo A.; STRÜSSMANN, Christine; MARTINS, Itamar; RECCO-PIMENTEL, Shirlei M.. The karyotype of three Brazilian *Terrarana* frogs (Amphibia, Anura) with evidence of a new *Barycholos* species. **Genetics And Molecular Biology**, [S.L.], v. 32, n. 3, p. 470-476, 19 jun. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-47572009005000044>.

SOUZA, Késsia L.; PEIXOTO, Marco A.; BARRETO, Cynthia A.V.; FEIO, Renato N.; DERGAM, Jorge A.. Cytogenetics of Four Species of the Green Clade *Aplastodiscus* Lutz, 1950 (Anura: cophomantinae). **Cytogenetic And Genome Research**, [S.L.], v. 160, n. 11-12, p. 704-710, 2020. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000512816>.

SOUZA, Ubiratã F.; ROSADO, Lucas; CUNHA, Maria Eduarda Bernardino; SILVA, Erlan Pirovani; SILVA-SOARES, Thiago. *Cycloramphus bandeirensis* (Bandeira Button Frog). Antipredator mechanism. **Herpetological Review**, v. 54, n. 1, p. 814-815, 2020.

SUÁREZ, P.; CARDOZO, D.; BALDO, D.; PEREYRA, M.O.; FAIVOVICH, J.; ORRICO, V.G.D.; CATROLI, G.F.; GRABIELE, M.; BERNARDE, P.s.; NAGAMACHI, C.y.. Chromosome Evolution in *Dendropsophini* (Amphibia, Anura, Hylinae). **Cytogenetic And Genome Research**, [S.L.], v. 141, n. 4, p. 295-308, 2013. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000354997>.

TARGUETA, C. P.; RIVERA, M.; LOURENÇO, L. B.. Karyotypic differentiation via 2n reduction and a finding of a case of triploidy in anurans of the genus *Engystomops* (Anura, Leiuperidae). **Genética**, [S.L.], v. 139, n. 10, p. 1339-1347, out. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-012-9636-y>.

TARGUETA, Cintia Pelegrineti. **CITOGENÉTICA COMPARATIVA DO GÊNERO *Engystomops*: UMA ABORDAGEM CLÁSSICA E MOLECULAR.**

2013. 149 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

THOMAS, Eric O.; TSANG, Linda; LICHT, Paul. Comparative Histochemistry of the Sexually Dimorphic Skin Glands of Anuran Amphibians. **Copeia**, [S.L.], v. 1993, n. 1, p. 133, 11 fev. 1993. JSTOR. <http://dx.doi.org/10.2307/1446304>.

TOLEDO, Luís Felipe; HADDAD, Célio F. B.. Colors and Some Morphological Traits as Defensive Mechanisms in Anurans. **International Journal Of Zoology**, v. 2009, p. 1-12, 2009. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2009/910892.46>

TOLEDO, Luís Felipe; HADDAD, Célio F. B.. Colors and Some Morphological Traits as Defensive Mechanisms in Anurans. **International Journal Of Zoology**, v. 2009, p. 1-12, 2009. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2009/910892>.

TOLEDO, R.C.; JARED, C.. Cutaneous granular glands and amphibian venoms. **Comparative Biochemistry And Physiology Part A: Physiology**, [S.L.], v. 111, n. 1, p. 1-29, maio 1995. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629\(95\)98515-i](http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629(95)98515-i).

TSIPOURI, Vicky; SCHUELER, Mary G; HU, Sufen; PROGRAM, Nisc Comparative Sequencing; DUTRA, Amalia; PAK, Evgenia; RIETHMAN, Harold; GREEN, Eric D. Comparative sequence analyses reveal sites of ancestral chromosomal fusions in the Indian muntjac genome. **Genome Biology**, [S.L.], v. 9, n. 10, p. 155-155, 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/gb-2008-9-10-r155>.

VENTURA, Karen; O'BRIEN, Patricia C. M.; YONENAGA-YASSUDA, Yatiyo; FERGUSON-SMITH, Malcolm A.. Chromosome homologies of the highly rearranged karyotypes of four Akodon species (Rodentia, Cricetidae) resolved by reciprocal chromosome painting: the evolution of the lowest diploid number in rodents. **Chromosome Research**, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 1063-1078, 20 nov. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10577-009-9083-5>.

VENTURA, Karen; O'BRIEN, Patricia C. M.; YONENAGA-YASSUDA, Yatiyo; FERGUSON-SMITH, Malcolm A.. Chromosome homologies of the highly rearranged karyotypes of four Akodon species (Rodentia, Cricetidae) resolved by reciprocal chromosome painting: the evolution of the lowest diploid number in rodents. **Chromosome Research**, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 1063-1078, 20 nov. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10577-009-9083-5>.

VERDADE, Vanessa Kruth; ALMEIDA-SILVA, Diego; CASSIMIRO, José; RODRIGUES, Miguel Trefaut. Rediscovering *Cycloramphus bandeirensis* (Anura: Cycloramphidae). **Phyllomedusa: Journal of Herpetology**, [s.l.], v. 18, n. 2, p.159-175, 17 dez. 2019. Universidade de São Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2316-9079.v18i2p159-175>.

WASSERSUG, Richard J.. Oral morphology of anuran larvae: terminology and general description. **Occasional Papers of the Museum of Natural History**, v. 48, p. 1-23, 1976.

WASSERSUG, Richard J.. The Adaptive Significance of the Tadpole Stage with Comments on the Maintenance of Complex Life Cycles in Anurans. **American Zoologist**, S.I, v. 15, n. 2, p. 405-417, 1975.

WATTERS, Jessa L.; CUMMINGS, Sean T.; FLANAGAN, Rachel L.; SILER, Cameron D.. Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach. **Zootaxa**, v. 4072, n. 4, p. 477-495, 3 fev. 2016. Magnolia Press. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4072.4.6>.

WEBER, Luiz Norberto; VERDADE, Vanessa Kruth; SALLES, Rodrigo de de Oliveira Lula; FOUQUET, Antoine; CARVALHO-E-SILVA, Sergio Potsch de. A new species of *Cycloramphus* Tschudi (Anura: Cycloramphidae) from the Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Southeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 2737, n. 1, p.19-33, 12 jan. 2011. Magnolia Press. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.2737.1.2>.

ZATTERA, Michelle Louise; GAZOLLA, Camilla Borges; SOARES, Amanda de Araújo; GAZONI, Thiago; POLLET, Nicolas; RECCO-PIMENTEL, Shirlei Maria; BRUSCHI, Daniel Pacheco. Evolutionary Dynamics of the Repetitive DNA in the Karyotypes of *Pipa carvalhoi* and *Xenopus tropicalis* (Anura, Pipidae). **Frontiers In Genetics**, [S.L.], v. 11, 21 jul. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2020.00637>.

ZOCCA, C. Z.; FERREIRA, F. C. L.; FERREIRA, R. B. Observações sobre história natural de *Zachaenus carvalhoi* Izecksohn, 1983 “1982” (Amphibia: Anura: Cycloramphidae). **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão, Nova Série**, v. 34, p. 63-74, 2014.

S1. MATERIAL SUPLEMENTARTabela S1 – Lista de exemplares analisados do gênero *Cycloramphus* em coleções científicas.

Número de tombo	Espécie	Sexo	Observação
MNRJ36831	<i>Cycloramphus acangatan</i>	Fêmea	-
MNRJ41614	<i>Cycloramphus acangatan</i>	Macho	Topótipo
MZUSP126897	<i>Cycloramphus acangatan</i>	Macho	Parátipo
MZUSP126898	<i>Cycloramphus acangatan</i>	Fêmea	Parátipo
MZUSP126900	<i>Cycloramphus acangatan</i>	Macho	Holótipo
MZUSP57750	<i>Cycloramphus asper</i>	Fêmea	-
MZUSP57748	<i>Cycloramphus asper</i>	Macho	-
MZUSP57752	<i>Cycloramphus asper</i>	Macho	-
MZUSP53924	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	-	Holótipo
MZUFV18665	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV18664	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV18663	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV18668	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV18669	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV18662	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV19770	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV19771	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV20567	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV20562	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo

MZUFV18647	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Fêmea	Topótipo
MZUFV18672	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Fêmea	Topótipo
MZUFV20773	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Fêmea	Topótipo
MZUFV20774	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Fêmea	Topótipo
MZUFV20775	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV20776	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV207778	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	Macho	Topótipo
MZUFV18666	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	-	Topótipo
MZUFV18667	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	-	Topótipo
MZUFV18670	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	-	Topótipo
MZUFV18671	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	-	Topótipo
MZUFV20560	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	-	Topótipo
MZUFV20557	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	-	Topótipo
MNRJ91026	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	-	Topótipo
MNRJ91027	<i>Cycloramphus bandeirensis</i>	-	Topótipo
MZUSP132777	<i>Cycloramphus bolitoglossus</i>	Fêmea	-
MZUSP132774	<i>Cycloramphus bolitoglossus</i>	Macho	-
MNRJ89225	<i>Cycloramphus boraceiensis</i>	Macho	-
MNRJ89224	<i>Cycloramphus boraceiensis</i>	Macho	-
MNRJ89226	<i>Cycloramphus boraceiensis</i>	Fêmea	-
MZUSP3934	<i>Cycloramphus boraceiensis</i>	Macho	Holótipo

MNRJ90355	<i>Cycloramphus brasiliensis</i>	Macho	L6 em Heyer, 1983a
MZUSP1008	<i>Cycloramphus brasiliensis</i>	Macho	Holótipo
MZUSP57757	<i>Cycloramphus brasiliensis</i>	Macho	-
MNRJ4169	<i>Cycloramphus carvalhoi</i>	?	Parátipo
MZUSP73645	<i>Cycloramphus carvalhoi</i>	?	Parátipo
MZUSP57771	<i>Cycloramphus catarinenses</i>	Macho	-
MZUSP73691	<i>Cycloramphus diringshofeni</i>	Macho	Holótipo – WCAB548
MNRJ90353	<i>Cycloramphus dubius</i>	Fêmea	Topótipo
MZUSP647	<i>Cycloramphus dubius</i>	Macho	Lectótipo
MNRJ91250	<i>Cycloramphus duseni</i>	Fêmea	L174 em Heyer, 1983a
MNRJ91249	<i>Cycloramphus duseni</i>	Macho	L173 em Heyer, 1983a
MNRJ91248	<i>Cycloramphus duseni</i>	Macho	L172 em Heyer, 1983a
MNRJ90366	<i>Cycloramphus duseni</i>	Fêmea	L165 em Heyer, 1983a
MZUSP24	<i>Cycloramphus eleutherodactylus</i>	Fêmea	Lectótipo
MNRJ43144	<i>Cycloramphus faustoi</i>	Fêmea	Parátipo
MNRJ43145	<i>Cycloramphus faustoi</i>	Fêmea	Parátipo
MNRJ1752	<i>Cycloramphus fuliginosus</i>	Macho	-
MNRJ30070	<i>Cycloramphus fuliginosus</i>	Macho	-
MNRJ2329	<i>Cycloramphus fuliginosus</i>	Fêmea	-
MNRJ1317	<i>Cycloramphus fuliginosus</i>	Fêmea	-
MNRJ75755	<i>Cycloramphus granulosus</i>	Macho	-

MNRJ75756	<i>Cycloramphus granulosus</i>	Fêmea	-
MNRJ33852	<i>Cycloramphus heyeri</i>	Macho	Holótipo – L32 em Heyer, 1983a
MNRJ37366	<i>Cycloramphus heyeri</i>	Macho	Parátipo – L33 em Heyer, 1983a
MNRJ40306	<i>Cycloramphus izecksohni</i>	Macho	-
MNRJ87847	<i>Cycloramphus izecksohni</i>	Macho	-
MNRJ87848	<i>Cycloramphus izecksohni</i>	Fêmea	-
MZUSP86801	<i>Cycloramphus izecksohni</i>	?	WCAB30969
MZUSP86800	<i>Cycloramphus izecksohni</i>	?	WCAB30968
MNRJ52196	<i>Cycloramphus juimirim</i>	Macho	-
MZUSP65376	<i>Cycloramphus juimirim</i>	Macho	Holótipo
MZUSP74272	<i>Cycloramphus juimirim</i>	Macho	-
MNRJ80585	<i>Cycloramphus lithomimeticu</i>	Macho	Holótipo
MNRJ80586	<i>Cycloramphus lithomimeticus</i>	Fêmea	Parátipo
MNRJ80587	<i>Cycloramphus lithomimeticus</i>	Macho	Parátipo
MNRJ80596	<i>Cycloramphus lithomimeticus</i>	Fêmea	Parátipo
MNRJ80588	<i>Cycloramphus lithomimeticus</i>	Macho	Parátipo
MNRJ80589	<i>Cycloramphus lithomimeticus</i>	Macho	Parátipo
MZUSP57805	<i>Cycloramphus lutzorum</i>	Macho	Holótipo
MZUSP57806	<i>Cycloramphus lutzorum</i>	?	Parátipo
MZUSP57808	<i>Cycloramphus lutzorum</i>	?	Parátipo
MZUSP63450	<i>Cycloramphus migueli</i>	Macho	Holótipo

MNRJ85783	<i>Cycloramphus mirandaribeiroi</i>	Fêmea	-
MZUSP57809	<i>Cycloramphus mirandaribeiroi</i>	Macho	Holótipo
MNRJ90876	<i>Cycloramphus ohausi</i>	Macho	L71 em Heyer, 1983a
MNRJ80877	<i>Cycloramphus ohausi</i>	Macho	L72 em Heyer, 1983a
MNRJ80878	<i>Cycloramphus ohausi</i>	Macho	L73 em Heyer, 1983a
MNRJ90373	<i>Cycloramphus ohausi</i>	Fêmea	L85 em Heyer, 1983a
MNRJ80880	<i>Cycloramphus ohausi</i>	Macho	L75 em Heyer, 1983a
MNRJ74623	<i>Cycloramphus organensis</i>	Fêmea	-
MZUSP102078	<i>Cycloramphus parvulus</i>	Macho	-
MZUSP102065	<i>Cycloramphus parvulus</i>	Macho	-
MZUSP102055	<i>Cycloramphus parvulus</i>	Fêmea	-
MZUSP102079	<i>Cycloramphus parvulus</i>	Fêmea	-
MNRJ91003	<i>Cycloramphus rhyakonastes</i>	Fêmea	-
MNRJ91004	<i>Cycloramphus rhyakonastes</i>	Fêmea	-
MZUSP57827	<i>Cycloramphus rhyakonastes</i>	Macho	Holótipo
MZUSP57856	<i>Cycloramphus rhyakonastes</i>	Macho	-
MNRJ67306	<i>Cycloramphus semipalmatus</i>	Macho	-
MZUSP737	<i>Cycloramphus semipalmatus</i>	Macho	Holótipo
MNRJ60544	<i>Cycloramphus stejnegeri</i>	Macho	-
MNRJ60548	<i>Cycloramphus stejnegeri</i>	Fêmea	-
MZUSP57860	<i>Cycloramphus valae</i>	Fêmea	Holótipo

MZUSP57882	<i>Cycloramphus valae</i>	Fêmea	-
MZUSP57883	<i>Cycloramphus valae</i>	Macho	-

MZUFV: Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa.
MZUSP: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. MNRJ: Museu Nacional do Rio de Janeiro. “?”: informação não disponível.