

**Universidade Federal de Minas Gerais**  
**Instituto de Ciências Biológicas**  
**Programa de Pós-Graduação em Zoologia**

**MORFOLOGIA E HISTOLOGIA DE CALOSIDADES  
NUPCIAIS EM LEIUPERINAE E PARATELMATOBINAE  
(AMPHIBIA: ANURA: LEPTODACTYLIDAE):  
DESCRIÇÃO, BUSCA DE CARACTERES  
FILOGENÉTICOS E COMENTÁRIOS EVOLUTIVOS**

**IGOR RODRIGUES FERNANDES**

**BELO HORIZONTE**

**2016**

**Universidade Federal de Minas Gerais**  
**Instituto de Ciências Biológicas**  
**Programa de Pós-Graduação em Zoologia**

**MORFOLOGIA E HISTOLOGIA DE CALOSIDADES  
NUPCIAIS EM LEIUPERINAE E PARATELMATOBINAE  
(AMPHIBIA: ANURA: LEPTODACTYLIDAE):  
DESCRIÇÃO, BUSCA DE CARACTERES  
FILOGENÉTICOS E COMENTÁRIOS EVOLUTIVOS**

**Autor:** Igor Rodrigues Fernandes  
**Orientador:** Paulo Christiano de Anchietta Garcia  
**Coorientador:** German Arturo Bohorquez Mahecha

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zoologia.

**BELO HORIZONTE**

**2016**

043      Fernandes, Igor Rodrigues.  
            Morfologia e histologia de calosidades nupciais em Leiuperinae e Paratelmatobinae (Amphibia: anura: Leptodactylidae): descrição, busca de caracteres filogenéticos e comentários evolutivos [manuscrito] / Igor Rodrigues Fernandes. – 2016.

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

Orientador: Paulo Christiano de Anchieta Garcia. Coorientador: German Arturo Bohorquez Mahecha.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Zoologia - Teses. 2. Anfíbio. 3. Anuro. 4. Pele - Fisiologia. 5. Calosidades. I. Garcia, Paulo Christiano de Anchieta. II. Mahecha, German Arturo Bohorquez. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 591

**Morfologia e histologia de calosidades nupciais em Leiuperinae e Paratelmatobinae (Amphibia: Anura: Leptodactylidae): descrição, busca de caracteres filogenéticos e comentários evolutivos**

**AUTOR: IGOR RODRIGUES FERNANDES**

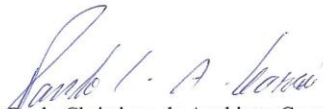
Esta dissertação foi apresentada em sessão pública e submetida a avaliação em 29 de agosto de 2016, pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:



Prof. Dr. Fernando Araújo Perini (Membro / UFMG)



Prof. Dr. Mario Alberto Cózuzol (Membro – UFMG)



Prof. Dr. Paulo Christiano de Anchieta Garcia (Orientador – UFMG)



## **Agradecimentos**

A minha família pelo suporte e incentivo, principalmente dos meus pais (Marlene e Dênio) e primo Paulo Milhorato, por não desacreditarem de mim.

Ao professor Paulo Garcia pelas aulas que me fizeram optar pela herpetologia, a oportunidade de fazer parte do laboratório e a disponibilidade e incentivo.

Ao professor Gérman Arturo pelas conversas motivadoras, o conhecimento peculiar e extenso e oportunidade de utilização do laboratório.

Aos amigos de laboratório, que fizeram dos momentos de trabalho, agradáveis, bem humorados e inventivos. Em especial ao meu padrinho herpetológico, Tiago Pezzuti (Presa), por me adotar e me ensinar os primeiros passos sobre bichos e sobre campo. Por me incentivar e acreditar em minhas potencialidades. Pelas conversas musicais, teorizações de mecanismos, propostas de trabalho e me instigar a buscar respostas para problemas não resolvidos. Pelo grande amigo que se tornou pra mim. A Rafael Félix, João Vitor (Johny), Henrique Caldeira, Emanuel Teixeira pelas discussões e modelo de pesquisadores exemplares. A Caroline Oswald, pela companhia, conversas sérias e não sérias, mas que nunca cantou pra mim (te admiro muito). Ao Estevão Comiti pelas suas palhaçadas diversas e seu iogurte.

Aos amigos da Pós-graduação, pelos conhecimentos compartilhados e discussões biológicas e não biológicas. Principalmente ao Felipe Freitas (apesar de gostar de banda do mar) e Daniel Casalli (pessoa humana), pessoal bom de serviço.

A Débora de Paula, por percorrer comigo parte do processo de mestrado e cinco maravilhosos anos da minha vida, pela paciência, incentivo, confiança e motivo da maior parte dos meus melhores momentos e alegrias.

## Resumo

Calosidades nupciais são estruturas presentes em uma grande diversidade de anuros. São compostas por espessamento de epiderme e derme associadas, com ou sem a presença de glândulas nupciais, e associadas à otimização do amplexo, embates entre machos e produção de feromônios. Embora poucos estudos com foco nas calosidades tenham sido realizados, variações significativas na densidade, topologia e ultraestrutura dos calos foram encontradas em diferentes táxons, podendo auxiliar na sistemática. Uma família que possui calosidades nupciais conspicuas, mas carentes de estudos detalhados é Leptodactylidae. Dessa forma, a descrição, levantamento de caracteres e otimização em uma compilação de filogenias moleculares foram realizados para duas subfamílias de Leptodactylidae: Leiuperinae e Paratelmatoquinae. O pólax de 42 espécies foi fotografado, dissecado e endereçado para microscopia eletrônica de varredura (MEV) e histologia/histoquímica (azul de toluidina, reação com ácido periódico de Schiff e alcian blue pH 0.5 e 2.5). Calosidades nupciais sem queratinização escura são autapomorfias de *Paratelmatoquina lutzii* e *Physalaemus rupestris*. São sinapomorfias homoplásicas a forma das projeções epidérmicas (PEs) em *Crossodactylodes* e *Leptodactylus* (grandes espinhos) e em *Scytrophrys* e Leiuperinae (lajotas). O carpo não coberto por calosidade é uma autapomorfia homoplásica de *Pa. cardosoi*. A calosidade sem divisão é uma autapomorfia homoplásica em *Ph. henselii* e *Ph. lisei*. A falange não coberta por calosidade é uma sinapomorfia putativa homoplásica do clado *Ph. cuvieri* (exceto *Ph. henselii* e *Ph. lisei*). A calosidade cobrindo toda a falange proximal é uma sinapomorfia homoplásica de Paratelmatoquinae e clado *Ph. signifer* (exceto *Ph. nattereri*); sendo a cobertura da falange distal sinapomorfia putativa de *Paratelmatoquina* (exceto *Pa. lutzii*, onde apenas a falange proximal é coberta). O calo metacarpal interno não coberto por calosidade é uma sinapomorfia homoplásica do grupo *Ph. biligonigerus*. Glândulas nupciais e papilas dérmicas são sinapomorfias putativas homoplásicas ausentes em *Crossodactylodes* e *L. petersii*. O comportamento como sinapomorfias putativas homoplásicas (maioria), não homoplásicas e autapomorfias, suportando diversos clados e distinguindo espécies dentro de seus gêneros, evidencia a importância das calosidades nupciais para sistemática de Leptodactylidae.

**Palavras-chave:** caracteres sexuais secundários, sistemática, anfíbios, pele, sinalização química.

## Abstract

Nuptial pads are present in a wide range of anuran species. These structures are composed by epidermal and dermal thickening, with the presence of nuptial glands or not. Nuptial pads are linked with amplex optimization, male fights and pheromone production. Although few studies on nuptial pads have been made, significative variation in density, topology and ultrastructure were found for many taxa, with possible applications in systematics. Leptodactylid frogs comprise a family where nuptial pads are conspicuous and variable, but lacking detailed investigations. Therefore, the description, character assessments, and optimization of chosen characters into molecular phylogenies was made for two subfamilies of Leptodactylidae: Leiuperinae and Paratelmatobinae. The pollex of 42 specimens was photographed, dissected and addressed to scanning electron micrography (SEM) and histology/histochemistry (toluidin blue, periodic acid-Sciff [PAS] and alcian blue pH 2.5 and 0.5). Nuptial pads without dark keratinization are a homoplastic autapomorphy of *Paratelmatobius lutzii* and *Physalaemus rupestris*. The shape of the epidermic projections (EPs) is a homoplastic putative sinapomorphy of *Crossodactylodes* and *Leptodactylus* (large spines), and *Scytrophrys* and Leiuperinae (flagstone-like). The carpal area not covered by nuptial pads is a homoplastic autapomorphy of *Pa. cardosoi*. An undivided nuptial pad is a homoplastic autapomorphy of *Ph. henselii* and *Ph. lisei*. The naked phalanx (i.e., not covered by nuptial pads) is a homoplastic putative sinapomorphy of the *Ph. signifer* clade (except for *Ph. henselii* and *Ph. lisei*). The proximal phalanx completely covered in Paratelmatobinae and *Ph. signifer* clade (except for *Ph. nattereri*) is a homoplastic putative sinapomorphy; and the distal phalanx covered in *Paratelmatobius* (except for *Pa. lutzii*) a putative sinapomorphy. The inner metacarpal tubercle not covered by nuptial pads is a homoplastic putative sinapomorphy of the *Ph biligonigerus* group. The absence of nuptial glands and dermal papillae are autapomorphies of *Crossodactylodes* and *L. petersii*. Therefore, nuptial pads occur as homoplastic putative sinapomorphies (mostly), not homoplastic putative sinapomorphies, and autapomorphies, giving support to many clades and distinguishing species within genera. We can conclude that nuptial pads can be important in future morphological phylogenies for recovering evolutionary relationships among the Leptodactylidae.

**Keywords:** secondary sexual characters, systematics, amphibia, skin, chemical sinalization.

# Sumário

Resumo.....	v
Abstract .....	vii
Lista de figuras.....	10
Lista de tabelas.....	15
1. Introdução .....	16
2. Objetivos .....	24
3. Material e Métodos .....	25
4. Resultados .....	28
4.1 Descrição microscópio estereoscópico.....	28
4.1.1 <i>Physalaemus</i> .....	28
4.1.2 <i>Pseudopaludicola</i> .....	62
4.1.3 <i>Pleurodema</i> .....	65
4.1.4 <i>Paratelmatoebius</i> .....	68
4.1.4 <i>Crossodactylodes</i> .....	75
4.1.5 <i>Rupirana</i> .....	78
4.1.6 <i>Scytrophrys</i> .....	80
4.1.7 <i>Leptodacylus</i> .....	82
4.1.8 <i>Vitreorana</i> .....	83
4.2 Descrição MEV .....	85
4.2.1 <i>Physalaemus</i> .....	85
4.2.2 <i>Pseudopaludicola</i> .....	103
4.2.3 <i>Pleurodema</i> .....	104
4.2.4 <i>Paratelmatoebius</i> .....	105
4.2.5 <i>Crossodactylodes</i> .....	110
4.2.6 <i>Rupirana</i> .....	112
4.2.7 <i>Scytrophrys</i> .....	113

4.3 Descrição Histológica .....	116
4.3.1 Visão geral .....	116
4.3.2 Características específicas: <i>Physalaemus</i> .....	118
4.3.3 <i>Pseudopaludicola</i> .....	149
4.3.4 <i>Pleurodema</i> .....	151
4.3.5 <i>Paratelmatoebius</i> .....	154
4.3.6 <i>Crossodactyloides</i> .....	157
4.3.6 <i>Crossodactyloides</i> .....	157
4.3.7 <i>Rupirana</i> .....	158
4.3.8 <i>Scytrophrys</i> .....	159
4.3.9 <i>Leptodactylus</i> .....	161
4.3.10 <i>Vitreorana</i> .....	162
4.4 Lista de caracteres e matriz. ....	164
5. Discussão.....	175
5.1 Morfologia.....	175
5.2 Histologia .....	184
6 . Conclusão .....	190
7. Referencias bibliográficas .....	192
Anexo 1. ....	199
Anexo 2. ....	207

## Lista de figuras

Figura 1. Estrutura geral da pele de um anfíbio.....	17
Figura 2. Eixos e referenciais utilizados para descrição morfológica em estereoscopia. ....	27
Figura 3. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P.cuvieri</i> .....	30
Figura 4. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P.centralis</i> . ....	31
Figura 5. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P.kroyeri</i> .....	33
Figura 6. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. albonotatus</i> .....	34
Figura 7. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. albifrons</i> . ....	35
Figura 8. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. cicada</i> .....	36
Figura 9. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. gracilis</i> .....	38
Figura 10. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. evangelistai</i> .....	39
Figura 11. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. lisei</i> .....	40
Figura 12. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. olfersii</i> . ....	42
Figura 13. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. orophilus</i> . ....	43
Figura 14. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. feioi</i> . ....	44
Figura 15. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. lateristriga</i> . ....	45
Figura 16. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. maximus</i> .....	46
Figura 17. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. biligonigerus</i> . ....	48
Figura 18. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. marmoratus</i> . ....	49
Figura 19. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. riograndensis</i> . ....	50
Figura 20. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. henselii</i> .....	51
Figura 21. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. nattereri</i> .....	53
Figura 22. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. crombiei</i> . ....	54
Figura 23. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. moreirae</i> . ....	55
Figura 24. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. signifer</i> . ....	56
Figura 25. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. nanus</i> . ....	57
Figura 26. . Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. deimaticus</i> .....	59

Figura 27. Vista ventral da calosidade de <i>P. rupestris</i> .....	61
Figura 28. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. erythros</i> .....	62
Figura 29. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. serrana</i> .....	64
Figura 30. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. mystacalis</i> . ....	65
Figura 31. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. diplolister</i> . ....	67
Figura 32. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. alium</i> . ....	68
Figura 33. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. gaigeae</i> . ....	70
Figura 34. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. cardosoi</i> .....	71
Figura 35. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. poecilogaster</i> . ....	72
Figura 36. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. langonei</i> . ....	73
Figura 37. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>P. lutzii</i> . ....	74
Figura 38. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>C. bokermanni</i> .....	76
Figura 39. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>C. itambe</i> .....	77
Figura 40. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>C. izecksohni</i> .....	78
Figura 41. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>R. cardosoi</i> . ....	80
Figura 42. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>S. arijui</i> . ....	81
Figura 43. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>S. sawayae</i> . ....	82
Figura 44. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de <i>L. petersii</i> .....	83
Figura 45. Vista ventral (A) e dorsal (B) da calosidade <i>V. uranoscopa</i> .....	84
Figura 46. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. cuvieri</i> .....	86
Figura 47. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. kroyeri</i> .....	87
Figura 48. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. albonotatus</i> . ....	88
Figura 49. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. albifrons</i> .....	89
Figura 50. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. cicada</i> . ....	90
Figura 51. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. evangelistai</i> . ....	91
Figura 52. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. lisei</i> .....	92
Figura 53. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. orophilus</i> .....	93

Figura 54. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. lateristriga</i> .	94
Figura 55. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. maximus</i> .	95
Figura 56. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. biligonigerus</i> .	96
Figura 57. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. marmoratus</i> .	97
Figura 58. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. moreirae</i> .	98
Figura 59. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. signifer</i> .	99
Figura 60. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. nanus</i> .	100
Figura 61. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. deimaticus</i> .	101
Figura 62. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. erythros</i> .	102
Figura 63. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. serrana</i> .	103
Figura 64. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. diplolister</i> .	104
Figura 65. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. cardosoi</i> .	106
Figura 66. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. gaigeae</i> .	107
Figura 67. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. lutzii</i> .	108
Figura 68. Ultraestrutura da calosidade de <i>P. poecilogaster</i> .	110
Figura 69. Ultraestrutura da calosidade de <i>C. bokermanni</i> .	111
Figura 70. Ultraestrutura da calosidade de <i>C. itambe</i> .	112
Figura 71. Ultraestrutura da calosidade de <i>R. cardosoi</i> .	113
Figura 72. Ultraestrutura da calosidade de <i>S. arijui</i> .	114
Figura 73. Ultraestrutura da calosidade de <i>S. sawayae</i> .	115
Figura 74. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. cuvieri</i> .	119
Figura 75. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. centralis</i> .	120
Figura 76. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. kroyeri</i> .	121
Figura 77. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. albonotatus</i> .	123
Figura 78. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. albifrons</i> .	124
Figura 79. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. cicada</i> .	125
Figura 80. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. gracilis</i> .	127



Figura 81. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. evangelistai</i> .....	128
Figura 82. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. lisei</i> .....	129
Figura 83. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. olfersii</i> . ....	131
Figura 84. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. feioi</i> .. ....	132
Figura 85. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. lateristriga</i> .....	133
Figura 86. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. maximus</i> .....	135
Figura 87. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. biligonigerus</i> .. ....	136
Figura 88. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. marmoratus</i> . ....	137
Figura 89. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. nattereri</i> .....	139
Figura 90. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. crombiei</i> . ....	140
Figura 91. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. moreirae</i> . ....	141
Figura 92. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. signifer</i> .. ....	143
Figura 93. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. nanus</i> .....	144
Figura 94. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. deimaticus</i> .....	145
Figura 95. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. rupestris</i> .. ....	147
Figura 96. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. erythros</i> .....	148
Figura 97. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. serrana</i> . ....	150
Figura 98. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. mystacalis</i> . ....	151
Figura 99. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. diplolister</i> . ....	152
Figura 100. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. alium</i> .. ....	153
Figura 101. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. poecilogaster</i> .. ....	155
Figura 102. Histologia da calosidade nupcial de <i>P. lutzii</i> .....	156
Figura 103. Histologia da calosidade nupcial de <i>C. itambe</i> .....	158
Figura 104. Histologia da calosidade nupcial de <i>R. cardosoi</i> . ....	159
Figura 105. Histologia da calosidade nupcial de <i>S. arijui</i> .. ....	160
Figura 106. Histologia da calosidade nupcial de <i>L. petersii</i> .....	161
Figura 107. Histologia da calosidade nupcial de <i>V. uranoscopa</i> . ....	163

Figura 108. Representação dos caracteres. Caráter 0 (calosidade no carpo), caráter 1 (calosidade dividida), caráter 2 (calosidade na falange), caráter 4 (calosidade queratinizada), caráter 7 (calosidade cobrindo a face ventral do CMC), caráter 10 (extensão da calosidade sobre a falange).....	166
Figura 109. Representação de um indício de divisão em calosidades nupciais.....	167
Figura 110. Representação dos caracteres: caráter 3: presença de GNs e caráter 6: diferenciação ápice base.....	168
Figura 111. Representação dos caracteres. Caráter 5: forma da superfície das PEs.....	169
Figura 112. Representação dos caracteres. Caráter 11: forma geral das PEs.....	170
Figura 113. Representação dos caracteres. Caráter 9: especialização de membrana das PEs.	171
Figura 114. Otimização dos caracteres por ACCTTRAN .....	173
Figura 115. Otimização dos caracteres por DELTRAN.....	174

## **Lista de tabelas**

Tabela 1. Matriz de caracteres das calosidades nupciais.....	172
Tabela 2. Espécimes examinados.....	199
Tabela 3. Medidas morfológicas .....	207
Tabela 4. Medidas histológicas .....	208

# 1. Introdução

O tegumento é a interface entre o meio externo e interno de um organismo. Nos anfíbios, a pele é geralmente mencionada como nua, por não apresentar estruturas como escamas, pelos, ou penas, características dos outros vertebrados. Além disso, a pele dos anfíbios é permeável à água, característica importante que os confere particularidades fisiológicas na respiração, osmorregulação e termorregulação (Duellman & Trueb 1994).

Como em todos os demais vertebrados, o tegumento consiste de uma camada externa, a epiderme de origem ectodérmica, e a derme subjacente de origem mesodérmica (Duellman & Trueb 1994). A derme, entretanto, também possui células (pigmentares) provenientes da crista neural e glândulas incorporadas de origem ectodérmica (Forbes et al. 1975). A aparência geral dos anfíbios resulta das estruturas tegumentares, sendo as cores e seus padrões determinadas pelos cromatóforos e a textura por modificações do tegumento (Duellman & Trueb 1994). Essas variações têm sido amplamente utilizadas para diferenciação de espécies em filogenias e revisões de grupo. Exemplos desse tipo de abordagem podem ser encontrados em Heyer (1970, 1974, 1975 [Leptodactylidae]), Nascimento et. al (2005 [Leiuperinae]), Scott (2005 [Ranidae]) e de Sá et al. (2014 [Leptodactylidae]) com relação à disposição de glândulas e padrões de manchas; em Grant et al. (2006) para diferenças histológicas ligadas à presença de glândulas linguais em Dendrobatidae; e Canndioti & Altig (2010) para variações morfológicas do aparelho oral de girinos, observadas em microscopia eletrônica de varredura para diversas famílias de anuros.

A camada mais externa da epiderme, o estrato córneo (figura 1), consiste de uma única camada de células achatadas, geralmente queratinizada. O estrato córneo é separado da camada subjacente, estrato germinativo, por espaços intercelulares irregulares interrompidos por filamentos de interconexão, os desmossomos. As fibras das células queratinizadas formam uma rede reforçada em conjunto com os feixes de tonofilamentos. O estrato germinativo possui geralmente de quatro a oito células de espessura, de forma que as mais basais são colunares e as apicais se tornam progressivamente mais achatadas (Duellman & Trueb 1994).

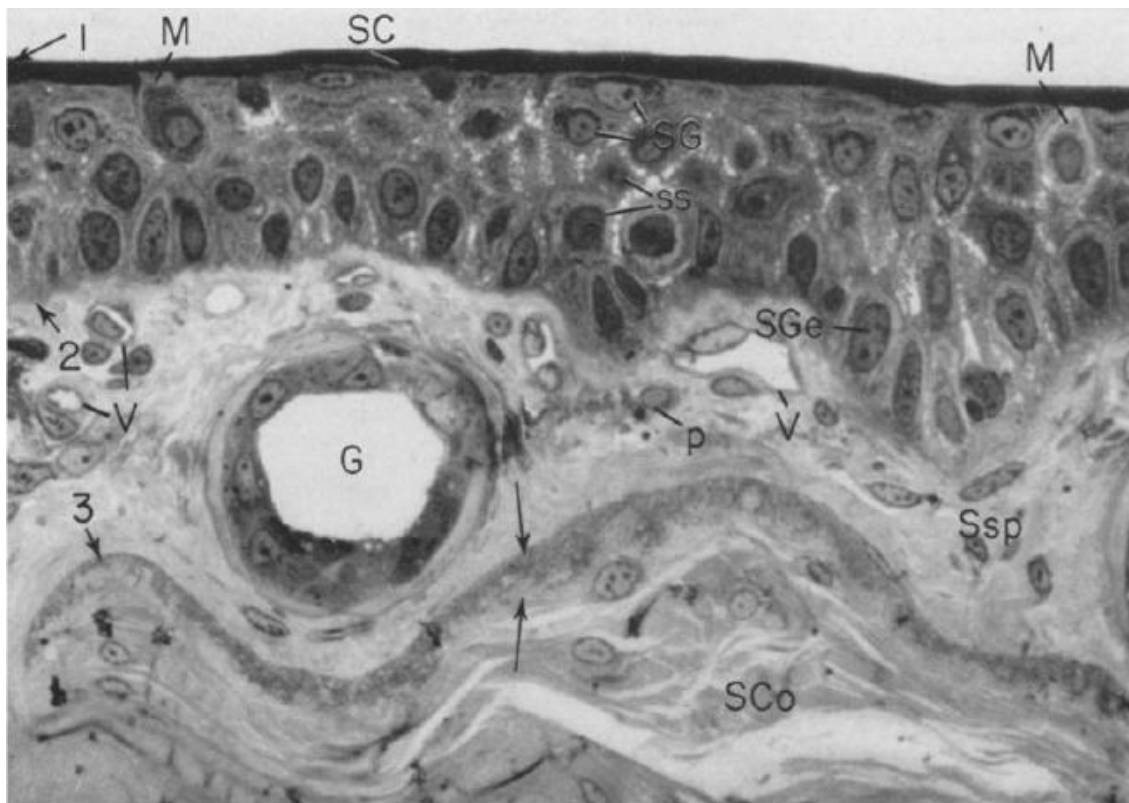


Figura 1. Estrutura geral da pele de um anfíbio (Farquhar & Palade 1964). Na epiderme, SC= estrato córneo, Sg= estrato granuloso, SS= estrato espinoso, SGe= estrato germinativo (ou esses três últimos= estrato germinativo segundo Duellman & Trueb [1994]). Na derme, Ssp= estrato esponjoso, SCo= estrato compacto. Números 2 e 3 representam os limites da epiderme para a derme e entre as duas camadas da derme respectivamente. G= glândula, V= vaso sanguíneo.

Entretanto, segundo alguns autores (Luna et al. 2012, Farquhar & Palade 1964, Haslam et al. 2014), é possível classificar o chamado estrato germinativo, para porções mais espessas da pele, em outros estratos (similares aos da histologia de mamíferos) fazendo uma descrição mais detalhada (figura 1). Nessa abordagem o estrato granuloso, possui geralmente uma única camada de espessura, com células arredondadas que apresentam uma ornamentação semelhante a do estrato córneo. A camada mais interna ao estrato granuloso é o estrato espinoso, composto de 3–4 camadas de células cuboidais. Finalmente, o estrato basal é uma monocamada de células colunares que repousa na membrana basal e derme (Luna et al. 2012). À medida que as células se deslocam e diferenciam do estrato germinativo em direção ao estrato córneo, seus feixes de tonofilamentos se tornam cada vez mais abundantes e compactados; e há um aumento na presença de vacúolos autolíticos, visíveis principalmente no estrato granuloso (Farquhar & Palade 1964).

A derme, por sua vez, é formada por duas camadas: o estrato esponjoso, composto principalmente de tecido conjuntivo frouxo (com feixes de colágeno sem arranjo organizado), glândulas, células pigmentares e vasos sanguíneos e linfáticos; e o estrato compacto subjacente formado por tecido conjuntivo denso, com feixes de colágeno arranjados de forma cruzada (Duellman & Trueb 1994; Azevedo et al. 2006). Músculos lisos, vasos sanguíneos e nervos cortam o estrato compacto se estendendo até o estrato esponjoso (Duellman & Trueb 1994). Entre as duas camadas, em algumas espécies de anuros, há deposição de cálcio denominada *substantia amorpha* (Schwinger et al. 2001) ou ainda, camada de Eberth-Katschenko (Azevedo et al. 2006).

No estrato esponjoso da derme encontram-se embebidas, principalmente, quatro tipos de glândulas alveolares de origem ectodérmica: mucosas, serosas (Duellman & Trueb 1994; Toledo e Jared 1993, 1995), mistas (Kaptan & Murathanoglu 2008; Kaptan & Bolkent 2014) e lipídicas (Blaylock et al. 1976; Warburg et al. 2000; Antoniazzi et al. 2013). Geralmente as glândulas mucosas são menores que as serosas e estão mais amplamente espalhadas ao longo do corpo do animal que as últimas, podendo se agregar em algumas espécies. Além disso, as unidades secretoras nas glândulas serosas são sinciciais em sua estrutura, enquanto as mucosas têm células bem delimitadas em sua formação (Jamieson 2003). As glândulas lipídicas por sua vez, são maiores que as glândulas mucosas, acinares e de lúmen pequeno. Seu epitélio secretor é composto de células colunares, com núcleo basal e grânulos de tamanho irregulares (Antoniazzi et al. 2013). Todos os tipos glandulares possuem células mioepiteliais associadas circundando-as e provavelmente participando do mecanismo de expulsão da secreção gerada (Jared et al. 2009; Melzer et al. 2013).

As glândulas mucosas estão geralmente ligadas a funções como respiração, balanço hídrico e dessecação, enquanto as serosas realizam outras funções vitais como produção de toxinas contra microorganismos e predadores (Prates et al. 2012; Toledo e Jared 1993, 1995). Algumas vezes as glândulas mucosas se arranjam em grupamentos formando macroglândulas, exclusivas dos machos em resposta aos hormônios testiculares e que se desenvolvem apenas nos períodos reprodutivos, sendo chamadas glândulas de acasalamento (Duellman & Trueb 1994, Thomas et al. 1993). Tais glândulas podem constituir uma estrutura epitelial conhecida como calo nupcial, presente em duas ordens de Amphibia, Anura e Urodela (Noble 1931; Goin & Goin 1962) e considerados características sexuais secundárias. Consistem em um

espessamento da epiderme (projeção epidérmica [PE]) e derme associada, regulados pela concentração de hormônios andrógenos (testosterona), em suas variações sazonais, os períodos reprodutivos (Kao et al. 1994). Geralmente surgem antes da época reprodutiva e são perdidos assim que o período termina (Kaptan & Murathanoglu 2008). Em ambas as ordens os calos nupciais podem ser encontrados tanto no antebraço, quanto carpo e dedos (Forbes et al. 1975).

Em determinadas espécies de anuros observa-se alto índice de queratinização dos calos, com grande espessamento do estrato córneo, geralmente associado à firmeza do amplexo em ambientes aquáticos e à luta entre machos na disputa por fêmeas. Além disso, apesar de suas funções ainda não serem bem compreendidas, acredita-se que as glândulas de acasalamento auxiliem na otimização do amplexo e/ou são secretoras de feromônios (Thomas et al. 1993; Wells 2007; Willaert et al. 2013;).

A presença (ou ausência) e coloração dos calos nupciais têm sido apontadas em descrições de espécies, sendo os calos usados como caráter na construção de filogenias com diversos estados e graus de detalhamento (Heyer 1974, 1975; Verdade 2005; Grant et al. 2006; de Sá et al. 2014). Verdade (2005) se limitou aos estados de presença e ausência de calosidades no gênero *Cycloramphus*, assim como Grant (2006) em sua filogenia de Dendrobatidae. Esse último, entretanto, chamou atenção para um gênero em particular, *Crossodactylus*, em que as fêmeas podem apresentar calosidades bem queratinizadas em forma de espinhos. Heyer (1974, 1975), em sua filogenia de Leptodactylidae, apresentou diversos estados de caráter para os calos, talvez pelas grandes peculiaridades encontradas na família. Dessa forma, três estados foram estabelecidos: a ausência da calosidade sobre o polegar; calosidade marrom ou negra em forma de asperezas; e a presença de calosidade em forma de um ou dois espinhos cornificados. de Sá et al. (2014), também para Leptodactylidae, adota a mesma abordagem de Heyer (1974, 1975), porém, separando o estado de caráter ‘um ou dois espinhos cornificados’, em dois estados: ‘pólex com um espinho lateral cornificado’ e ‘pólex com dois espinhos laterais cornificados’. Fouquet et al. (2013) numa tentativa de resolução de incerteza de posição filogenética de dois gêneros (*Crossodactylodes* e *Rupirana*) a partir de métodos moleculares, fazem um breve comentário sobre calosidades nupciais. Sugerem que as calosidades em poucos espinhos bem desenvolvidos são uma sinapomorfia putativa para *Crossodactylodes* e que nos demais

gêneros da subfamília por ele proposta (*Paratelmatobius*, *Rupirana* e *Scytrophrys*), as calosidades se apresentam como numerosos pequenos espinhos.

Fora das filogenias, uma análise de revisão de Centrolenidae, aborda o tema dos calos com uma análise topológica em conjunto com descrições de forma das calosidades (Lynch & Ruiz-Carranza 1996). Nessa revisão o posicionamento carpal, metacarpal e das falanges como categorizado por Flores (1985), foi considerado como caráter útil, além das áreas de cobertura e forma das calosidades sobre essas áreas. Ainda em Centrolenidae, Cisneros-Heredia & McDiarmid (2007) revisam diversos caracteres utilizados para a taxonomia do grupo, entre eles as excrescências nupciais. Avaliando que as descrições e tipos até então propostos não abrangiam toda a diversidade de excrescências, propõem uma nova classificação, com seis tipos de estado para o caráter. Além dos dois caracteres propostos por Flores (1985), outros são propostos baseados principalmente em tamanho, posição, tipo de formação glandular (agrupadas ou individuais), presença nos demais dedos e queratinização.

Outros trabalhos isolados têm descrito a morfologia externa das calosidades a partir de microscopia eletrônica e registrando diferenças significativas entre as espécies. Segundo Kurabuchi (1993), as especializações das superfícies epidérmicas à microscopia de varredura (MEV) são espécie-específicas em seus detalhes (processos acessórios), mas apresentam certas generalidades (são arredondadas ou cônicas) em Ranidae. A partir de microscopia de transmissão (MET), caracteriza esses processos como bem queratinizados e duros. Em publicação do ano seguinte, o mesmo autor (Kurabuchi 1994) aponta semelhanças de forma e processos acessórios das elevações das calosidades entre os Rhacophoridae e suas diferenças para com Hylidae. Aponta também (a partir de MET), que a camada mais externa das elevações das calosidades tem uma típica estrutura de queratina e suas protuberâncias acessórias são rígidas. Por fim sugere, a partir de colorações histoquímicas, que as secreções glandulares não são puramente mucosas, com algumas espécies apresentando substâncias proteicas. Pasqualina et al. (2012) também encontraram diferenças entre as quatro espécies estudadas dos gêneros *Phelophylax*, *Rana* e *Bombina*, além de diferenças entre espécies aquáticas e terrestres. As diferenças estão relacionadas ao arranjo e número dos microprocessos nos topos das papilas. Tyler & Langershausen (1986), analisando as calosidades nupciais (a partir de MEV) de 36 espécies entre Limnodynastidae e Hylidae (da Austrália e Nova Guiné), categorizam as formas encontradas em sete tipos: grandes



espinhos; formação de um espinho curvo sobre a papila; elevações cônicas; processos radiais; processos alares; papilas; e rosetas. Em suas considerações apontam uma maior preservação de tipos entre os gêneros de Hylidae, enquanto os Limnodynastidae possuem muitas variações.

No que diz respeito à histologia e microscopia óptica, poucos trabalhos tem como enfoque a comparação entre as espécies e a grande maioria se restringe basicamente à descrição da epiderme sobre determinadas situações. Kaptan & Murathanoglu (2008), realizaram um estudo sobre as diferenças histológicas das calosidades em suas variações anuais relacionadas ao ciclo de produção de espermatozoides nos testículos, enfatizando a condição de caracteres sexuais secundários das calosidades em *Rana ridibunda*. Kao et al. (1993), também estudando caracteres sexuais secundários, observaram a sazonalidade anual dos calos nupciais e saco vocal em *Rana rugulosa* em parâmetros histológicos do epitélio como rugosidade, espessura da epiderme e tamanho glandular. Ainda com enfoque sobre as diferenças apresentadas pelas calosidades ao decorrer do ano, Kaptan & Bolkent (2014) realizaram um experimento com marcações de glicoconjugados a partir de lectinas (proteínas ou glicoproteínas de afinidade específica), para observar variações na produção dessas substâncias no epitélio. Segundo os autores, as reações positivas de diferentes lectinas na epiderme e glândulas em diferentes períodos de atividade (ativo, pré-hibernação, pós-hibernação e hibernando), sugerem estados funcionais variáveis, ou adaptações sazonais e ainda que as glândulas nupciais sejam compostas por diferentes tipos de adenômeros (com secreções distintas), ou que as células possam estar em diferentes estados de maturação.

Fisiologicamente, a histologia e histoquímica de anuros sob condições de castração em machos e estimulação hormonal em fêmeas, demonstraram a importância dos níveis de testosterona no plasma sanguíneo para o desenvolvimento da calosidade (Epstein & Blackburn 1997; van Wyk et al. 2002;).

Sob a proposta de uma descrição histoquímica mais detalhada, Thomas et. al (1993) realizaram testes para caracterização glandular em 14 espécies de anuros. Descreveram as glândulas de acasalamento apresentando mucossubstâncias neutras e proteínas sulfactadas, ou mucoproteínas neutras. Esse foi o primeiro relato de glândulas nupciais de secreção mista em anuros.

Willaert et al. (2013), a partir de análises de proteoma e transcriptoma de *Rana temporaria*, nomearam uma proteína, chamada amplexina, secretada pelas glândulas de acasalamento presentes nas calosidades nupciais, similar a feromônios encontrados em salamandras Pletodontidae. Além disso, a pele da fêmea após o amplexo (axilar) aparenta sofrer uma abrasão significativa no local onde é tocada pelas calosidades do macho. A partir dessas observações, propuseram que o feromônio seria entregue diretamente na circulação da fêmea e que isso poderia reduzir a duração do amplexo.

Finalmente, numa tentativa de descrição completa dessa estrutura, visando parâmetros analisados por microscopia óptica, estereoscopia, e microscopia eletrônica, Luna et al. (2012) avaliaram a diversidade estrutural das glândulas na subfamília Phyllomedusinae. Com os resultados da microscopia eletrônica, alguns gêneros puderam ser agrupados de acordo com o arranjo e posicionamento das PEs e tipo de poro das glândulas. A partir das análises sob estereoscopia, com os parâmetros de densidade e forma das PEs, alguns grupos também foram obtidos. A descrição histológica foi geral, sugerindo que esse não é um bom método para separação de espécies e não há diferenças significativas entre as espécies estudadas.

Uma família de anuros em que os calos nupciais se apresentam conspícuos são os Leptodactylidae (Wells 2007). Os Leptodactylidae são divididos em três subfamílias, Leptodactylinae, Leiuperinae e Paratelmatoquinae (sensu Fouquet et al. 2013) e fora as descrições recorrentes de espécies, pouco estudo tem sido voltado às calosidades nupciais na família para fins filogenéticos. Dessa forma estudos mais detalhados dessas estruturas como feito por Luna et al. (2012) para Phyllomedusinae são inexistentes, apesar da importância das calosidades como caráter filogenético em Leptodactylidae (Heyer 1974, 1975). Nos Leptodactylidae as calosidades frequentemente estão associadas ao amplexo aquático, de forma que em espécies de amplexo terrestre esta característica não é encontrada (Wells 2007).

Dentre os Leptodactylidae, a subfamília Leiuperinae (sensu Pyron & Wiens 2011) tem sido alvo de muitos estudos de morfologia e história natural, que têm sugerido possíveis complexos de espécies (Cassini et al. 2010). Essa subfamília é composta por seis gêneros *Pseudopaludicola*, *Pleurodema*, *Edalorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix* e *Physalaemus* (Pyron & Wiens 2011). Desses, o mais especioso é *Physalaemus* que possui dois grandes clados: clado *P. signifer* e clado *P. cuvieri* (sensu Lourenço et al. 2015). O clado *P. signifer* é composto pelo gupo *P. deimaticus* (três

espécies) e outras onze espécies não alocadas em grupos. O clado *P. cuvieri* é composto por *P. cicada* e *P. aguirrei*, não alocados em nenhum grupo, e os seguintes grupos: *P. henselii* (duas espécies), *P. biligonigerus* (quatro espécies), *P. olfersii* (cinco espécies), *P. gracilis* (cinco espécies), e *P. cuvieri* (nove espécies). Entre os gêneros de Leiuperinae apenas dois não possuem calosidades nupciais: *Edalorhina* e *Engystomops*. As calosidades nupciais nas espécies dessa subfamília se apresentam em forma de asperezas nos pólex, frequentemente apontadas nas descrições das espécies. Entretanto, nenhum trabalho foi feito com relação ao teste das calosidades como caráter taxonômico nesse grupo. Mesmo revisões relativamente recentes como a de Nascimento et al. (2005), com amplo enfoque morfológico e anatômico, não consideram a calosidade nupcial como caráter.

A subfamília Paratelmatoquinae (sensu Fouquet et al. 2013) é composta pelos gêneros *Paratelmatoquinae*, *Scythrophrys*, *Crossodactylodes* e *Rupirana*. Apenas recentemente esses gêneros foram incorporados em análises filogenéticas moleculares e agrupados juntamente com os demais Leptodactylidae. Entretanto, as relações entre as subfamílias permanecem duvidosas com dois principais arranjos considerados mais plausíveis: (Leiuperinae + (Paratelmatoquinae + Leptodactylinae)) (Fouquet et al. 2013; Lourenço et al. 2015), ou (Leptodactylinae + (Paratelmatoquinae + Leiuperinae)) (Pyron e Wiens 2011). Ainda não há na literatura caracteres sinapomórficos morfológicos que definam a subfamília, nem as suas relações internas (((*Paratelmatoquinae* + *Crossodactylodes*) + *Scythrophrys*) + *Rupirana*). Todas as espécies do grupo possuem calosidades nupciais em forma de pequenos espinhos nos pólex. Contudo, poucos estudos relacionados à sua relevância como caráter taxonômico foram realizados, geralmente se limitando ao tamanho e contagem de espinhos na calosidade (Fouquet et al. 2013).

Devido ao panorama da escassez de estudos relacionados à descrição das calosidades nupciais nos anuros em seus diversos níveis de complexidade e em diferentes famílias, é importante que novos estudos sejam realizados para que a abrangência de formas seja conhecida. É importante também levar o detalhamento dos diversos níveis descritos à filogenia, para melhora dos testes de hipóteses. Para isso, uma descrição padronizada facilitaria o processo de inclusão de caracteres e estados numa matriz. Como não existem estudos detalhados sobre as calosidades nupciais em Leiuperinae e Paratelmatoquinae, mesmo com grande parte das espécies desses grupos as

possuindo, eles se tornam um bom material para teste do sinal filogenético da estrutura. Além disso, outros aspectos sobre a história natural dos grupos podem ser esclarecidos, com a descrição de novas estruturas e secreções glandulares, principalmente relacionados à biologia reprodutiva.

## **2. Objetivos**

O objetivo geral do trabalho é aumentar o conhecimento a respeito da morfologia externa (estereoscopia e microscopia eletrônica) e histologia/histoquímica dos calos nupciais em *Leiuperinae* e *Paratelmatoquinae*, a fim de identificar e propor caracteres (e seus estados) com base em hipóteses de homologia primária.

Os objetivos específicos envolvem a descrição da morfologia externa e histologia/histoquímica das calosidades nupciais em representantes da subfamília *Leiuperinae* e *Paratelmatoquinae*; compara-las ao conhecimento corrente em termos de forma e estrutura; elencar possíveis caracteres (e seus estados) em relação às calosidades nupciais; mapear os caracteres em filogenias preexistentes e discutir sua evolução.

### 3. Material e Métodos

Para a realização desse trabalho, foram utilizados pelo menos três espécimes (algumas exceções se devem a limitações de material em coleções) de 42 espécies (apêndice 1) de cada uma das três subfamílias de Leptodactilidae, sendo 29 espécies de Leiuperinae, 12 espécies de Paratelmatoquinae, uma espécie de Leptodactilinae e uma espécie de Centrolenidae, sendo essa última usada como grupo externo. Espécies reconhecidas pela literatura como desprovidas de calosidades não foram analisadas. Todos exemplares foram cedidos pelas coleções: UFMG, MZUSP, CFBH, ZUF RJ e MCP (acrônimos segundo Sabaj-Pérez 2014). Todos os espécimes encontravam-se fixados em formol 10% e armazenados em álcool 70%.

A análise e descrição morfológica externa das calosidades nupciais foi realizada em microscópio estereoscópico Leica M205A, estando os espécimes imersos em álcool 70% durante o procedimento. O *software* LAS4, que acompanha o equipamento, foi utilizado para observação, fotografia, contagem das PEs e densidade média das mesmas. No cálculo de densidade média, as PEs foram contadas em cinco quadrados aleatórios de área de 0,05mm<sup>2</sup> e a média das contagens foi calculada. Posteriormente, o resultado foi multiplicado por 20 para a correção da área para 1mm<sup>2</sup>. Foram analisados sempre mais de um indivíduo por espécie para a descrição de possíveis variações morfológicas encontradas entre populações.

A dissecação dos exemplares foi realizada com auxílio de microscópio estereoscópico Bausch & Lomb, e os pólex de cada espécie com as calosidades nupciais endereçados para histologia (preferencialmente três espécimes) e microscopia eletrônica (um espécime). Para o estudo das características histológicas, os pólex isolados foram descalcificados em solução de EDTA 5% e sacarose por 24 horas e posteriormente lavados para retirada do excesso de solução. Todos os indivíduos tiveram preferencialmente, o pólex direito retirado.

Para a inclusão em glicolmetacrilato, os pólex foram desidratados em série crescente de álcool etílico e infiltrados e incluídos em resina plástica (Technovit 7100). Utilizando micrótomo Spencer (American Optical Company), com lâmina de vidro própria, foram feitos cortes semisseriados, com objetivo de preservar a continuidade das estruturas, de espessura de 3–5µm.

Após a microtomia, os cortes foram destinados à coloração histológica pela hematoxilina e eosina (HE) e azul de toluidina-borato de sódio. Além de colorações histoquímicas pelo ácido periódico-reativo de Schiff (PAS) (Mc Manus, 1946) e alcian blue pH 0.5 (Lev & Spicer, 1964) e pH 2.5 (Mowry, 1956). Os preparados histológicos foram fotografados em fotomicroscópio II da Zeiss.

Na microscopia eletrônica as amostras fixadas em formaldeído 10% foram refixadas em solução tampão de cacodilato 0,1M e posteriormente submersas em tetróxido de ósmio 1%. Em seguida o material foi desidratado em séries ascendentes de etanol até 100%, seco em ponto crítico com CO<sub>2</sub>, metalizado em ouro e fotografado no Centro de Microscopia da UFMG. Os espécimes utilizados no trabalho, após terem o pólex retirado, foram novamente depositados na coleção herpetológica da UFMG, para posterior utilização para consultas e outros estudos.

Usaremos nesse trabalho a definição de projeção epidérmica utilizada por Luna et al. (2012). Portanto cada elevação formada por epitélio e derme da calosidade será chamada projeção epidérmica (PE). Os eixos e referenciais morfológicos utilizados nas descrições de estereoscopia seguem a figura 2.

As variações encontradas foram formalizadas em estados de caráter. E através do programa Mesquite versão 3.004 (Maddison & Maddison 2015) e WinClada versão 1.00.08 (Nixon, C. K. 1999), otimizações foram realizadas a partir do método de parcimônia, para visualização de como os possíveis caracteres se comportariam numa filogenia preestabelecida. A filogenia que serviu de base para a otimização foi a de Lourenço et al. (2015) para Leptodactylidae em geral, com complementação de Lourenço et al. (2007) para as relações dentro de *Paratelmatoobius* e Teixeira Jr et al. (2013) e Santos, M. T. T. (comunicação pessoal) para as relações dentro de *Crossodactylodes*.

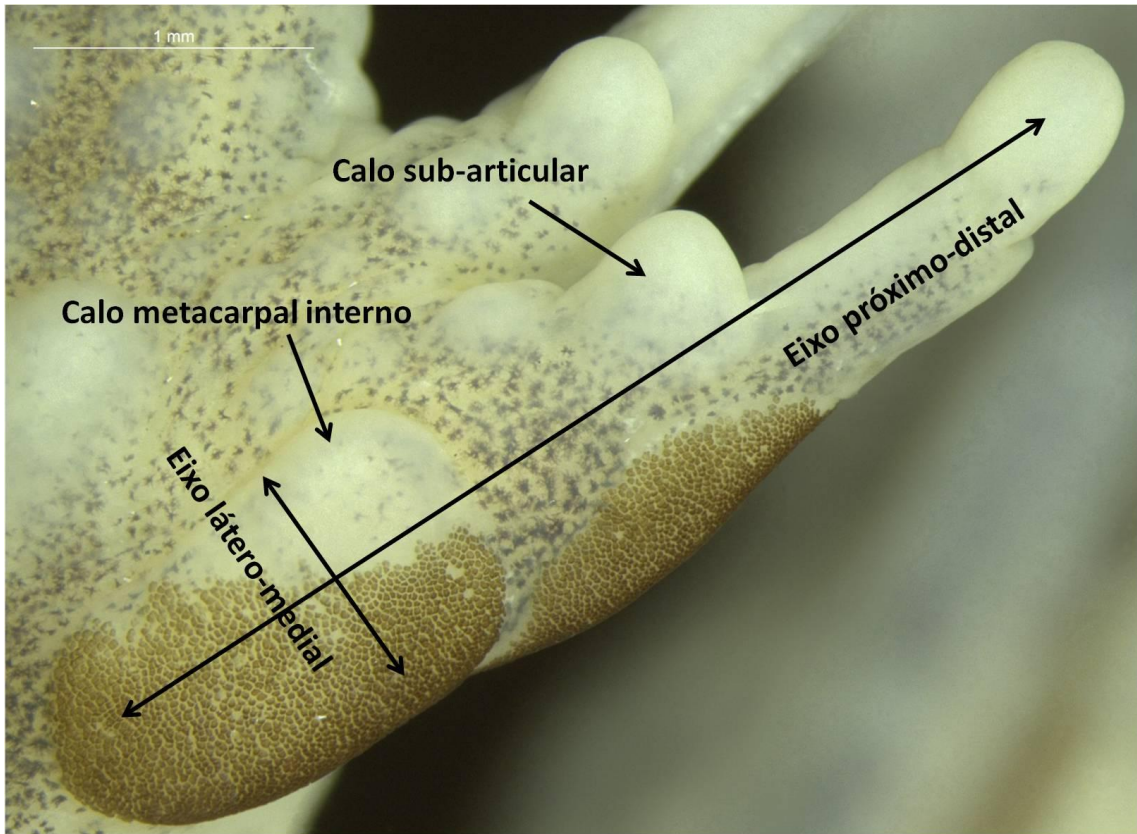


Figura 2. Eixos e referenciais utilizados para descrição morfológica em estereoscopia.

## 4. Resultados

### 4.1 Descrição microscópico estereoscópico.

#### 4.1.1 *Physalaemus*

##### Visão geral:

A calosidade se apresenta de forma distinta do restante da pele da mão do animal com PEs conspícuas e de coloração em tons de marrom. As PEs apresentam forma arredondada em menor aumento, porém, são disformes (tipo lajotas) com diversas arestas e partes arredondadas em maior aumento. Estão separadas por estreitas porções de pele clara, às vezes se encontrando aleatoriamente. Cada PE aparenta ser formada de subunidades menores, redondas, de tonalidade marrom escura e separadas entre si por áreas marrom-claras. A disposição das subunidades não tem um arranjo padrão, embora possa se observar em algumas PEs, uma subunidade servindo de centro, enquanto as outras se localizam à sua volta sem distribuição definida. A vista lateral da projeção tem forma de semicírculo a retângulo devido às variações na disposição das subunidades. As subunidades não possuem projeções do tipo gancho ou espinhos.

##### 4.1.1.1 Clado *P. cuvieri*

##### Grupo *P. cuvieri*

*P. cuvieri* (**figura 3**): Em vista ventral o calo se estende da base da região medial carpal, recobrando por completo a metade proximal do calo metacarpal interno e apenas a metade medial da porção distal do mesmo calo. Uma pequena interrupção completa é formada na passagem da porção carpal para a metacarpal do tapete de PEs acompanhando o contorno da margem distal do calo metacarpal. A partir da região proximal do metacarpo o tapete de PEs se inicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, na base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (primeiro terço da falange proximal) formando uma meia elipse.



Em vista dorsal, o tapete de PEs cobre a margem medial do carpo em forma de linha até a articulação com o metacarpo onde há a interrupção no tapete. O tapete reinicia em ângulo agudo na região proximal do metacarpo e se estende para a região distal em forma semicircular cobrindo o metacarpo por completo. A partir da porção proximal do calo subarticular, o tapete se estende medialmente até atingir a região da articulação metacarpo-falange proximal.

**Densidade:** 1538.46–2181.82 PE/mm<sup>2</sup> (média=1851.2 e SD=322.05).

**Variações:** Em vista dorsal alguns indivíduos podem apresentar a porção carpal do tapete em forma de cone com ápice proximal. Além disso, a partir da falange proximal, o tapete de PEs pode se estender, em forma de linha fina na porção medial da falange, até sua metade.

Em vista ventral um indivíduo não apresentou a interrupção completa do tapete de PEs entre a região carpal e metacarpal, apresentando uma invaginação do tapete em direção a sua porção medial com uma linha fina de PEs ligando as duas porções do tapete. No mesmo indivíduo as PEs atingiram o terço proximal da falange proximal, como uma pequena linha medial. Há uma interrupção da linha após o terço proximal da falange com pequena aglomeração de PEs no segundo terço proximal da falange proximal.

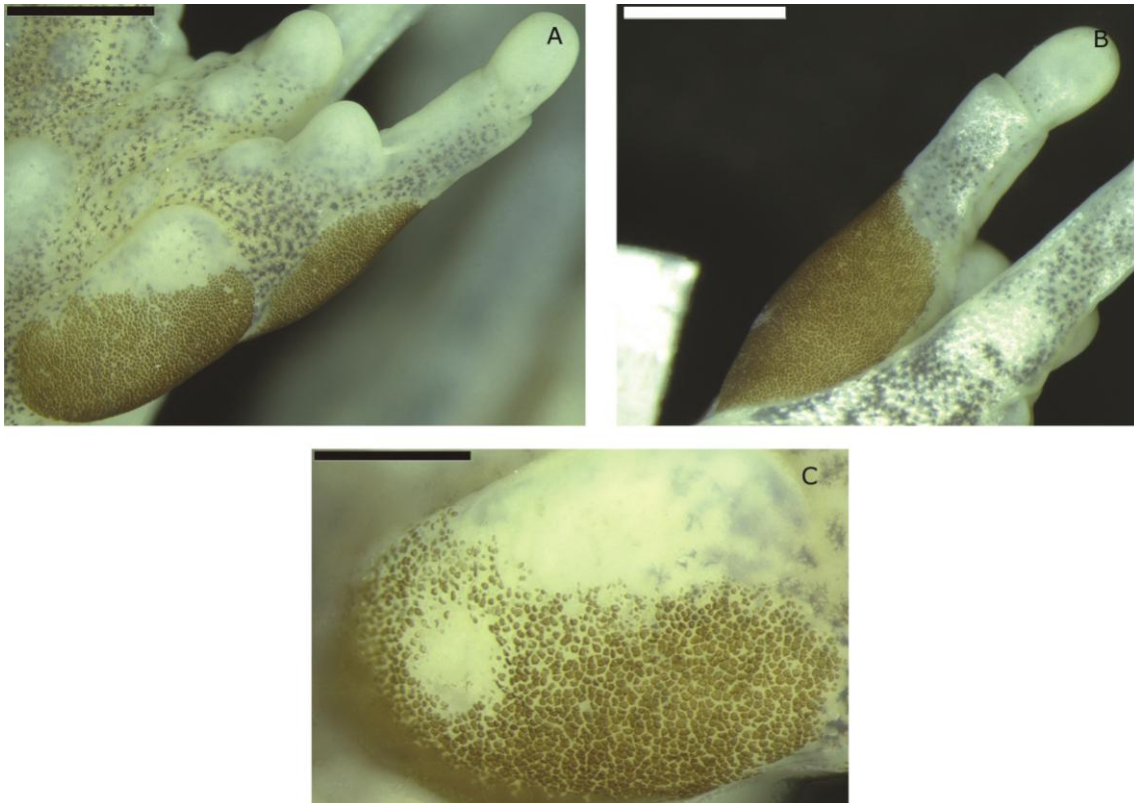


Figura 3. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P.cuvieri*. Escala: 1mm A e B; 0.5mm C.

***P.centralis* (figura 4):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando completamente o quarto ou terço proximal do calo metacarpal interno e apenas a metade medial da porção distal do mesmo calo. Uma pequena interrupção completa é formada entre o término do calo carpal e a continuidade do metacarpo no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo metacarpal interno. Após a interrupção o tapete de PEs se inicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, na base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando uma meia elipse fina.

Em vista dorsal, o tapete de PEs cobre a margem medial do carpo em forma de linha até a articulação com o metacarpo onde há a interrupção no tapete. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação

metacarpo-falange proximal cobrindo o metacarpo por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 1172.41–1400 PE/mm<sup>2</sup> (média=1232.47 e SD=147.009).

**Variações:** Em vista ventral dois dos indivíduos analisados apresentaram algum nível de fuscionamento entre a porção carpal e a metacarpal do tapete de PEs da calosidade (um apresentou calosidade dividida, porém com as duas porções do tapete muito próximas). Ainda assim, é possível reconhecer que são duas porções distintas, pela forma não uniforme das bordas dos tapetes que se encontram. Inclusive no mesmo indivíduo o tapete de PEs pode ser completamente dividido em uma das mãos, mas fusionado na outra. A maneira mais comum de fuscionamento ocorre na parte onde as duas porções do tapete são mais próximas, na extremidade mais medial em vista ventral.

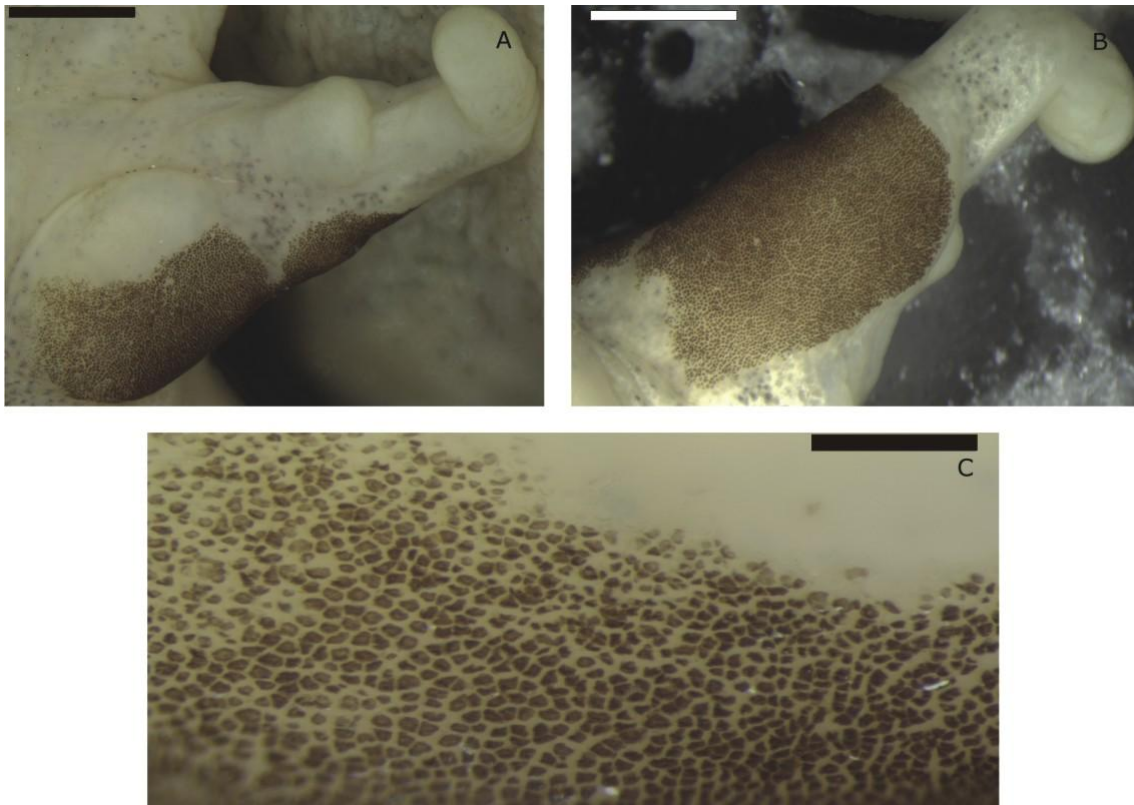


Figura 4. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P.centralis*. Escala: 1mm A e B; 0.2mm C.

***P. kroyeri* (figura 5):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando completamente o terço ou metade proximal do calo metacarpal interno e apenas a metade medial da porção distal do mesmo calo. Uma pequena interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, na base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando uma meia elipse fina.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até o primeiro sexto proximal da falange proximal cobrindo praticamente todo o metacarpo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 2300–3000 PE/mm<sup>2</sup> (média=2544.44 e SD=394.875).

**Variações:** Um indivíduo apresentou fusionamento no tapete de PEs em suas duas mãos.

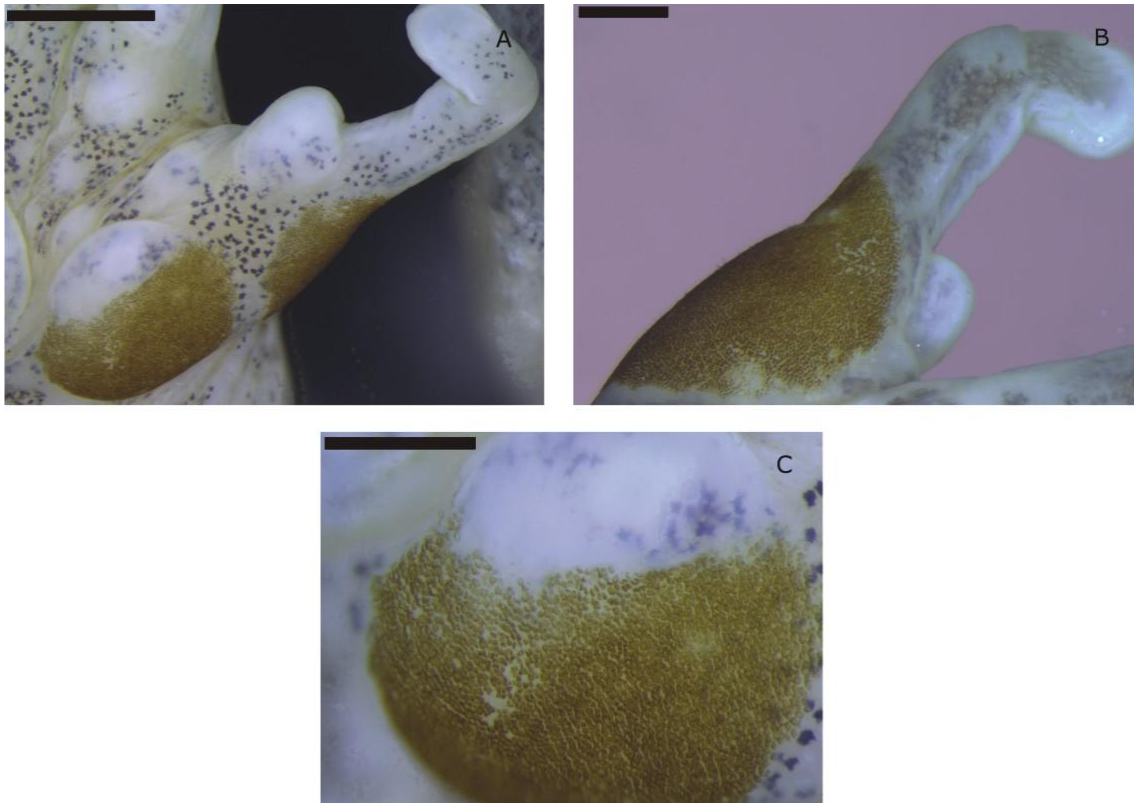


Figura 5. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P.kroyeri*. Escala: 1mm A; 0.5mm B e C.

***P. albonotatus* (figura 6):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando completamente o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas o terço ou metade medial da porção distal do mesmo calo. Uma pequena interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, na base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando uma meia elipse fina.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende

em forma semicircular até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo o metacarpo por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 2176.47–3000 PE/mm<sup>2</sup> (média=2558.82 e SD=414.904).

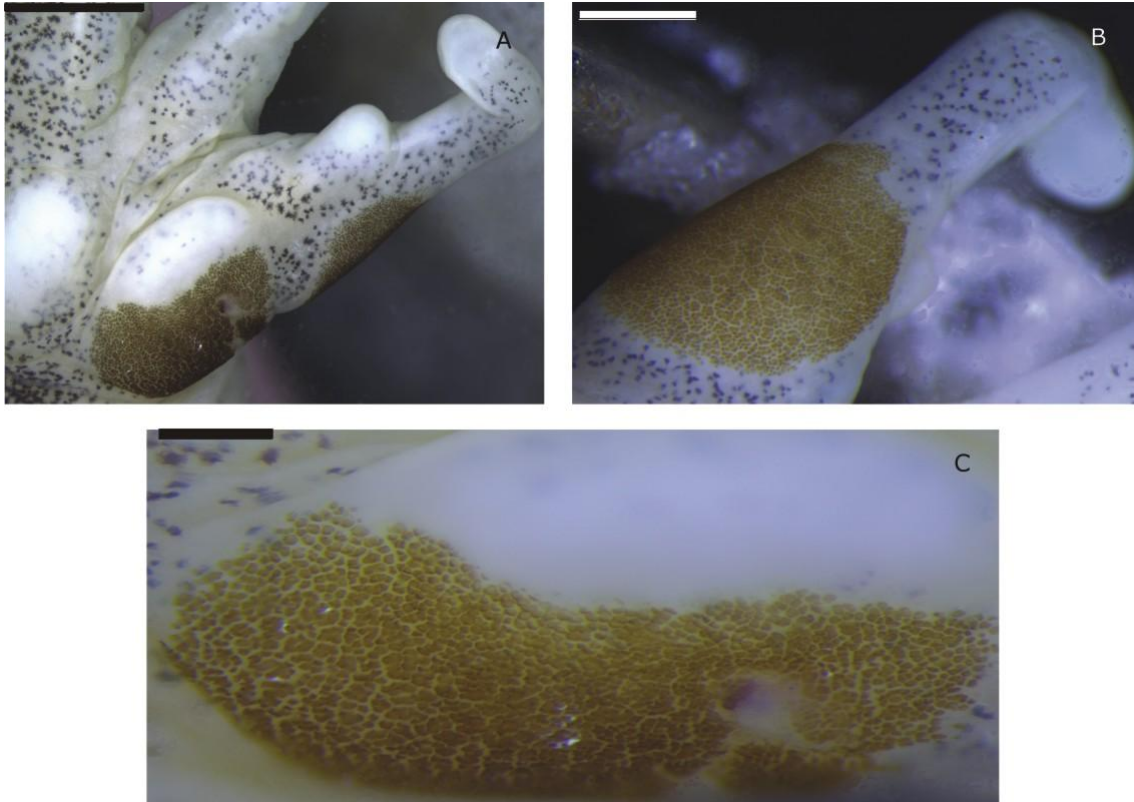


Figura 6. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. albonotatus*. Escala: 1mm A; 0.5mm B; 0.2mm C.

***P. albifrons* (figura 7):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando o terço ou metade medial do quinto proximal do calo metacarpal interno e apenas o terço medial da porção distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa pode ou não ser formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. Quando não formada, diversos graus de fusão entre as duas porções de PEs pode ser observada. Ainda assim, é possível reconhecer que são duas porções distintas, pela



forma não uniforme das bordas dos tapetes ao se encontrarem. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir da base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando um desenho tipo elipse fina ou espessa.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma de retângulo a semicírculo até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo o metacarpo por completo quando em forma de retângulo ou quase por completo quando em semicírculo.

**Densidade:** 1391.3–1535 PE/mm<sup>2</sup> (média=1468.43 e SD=72.7055).

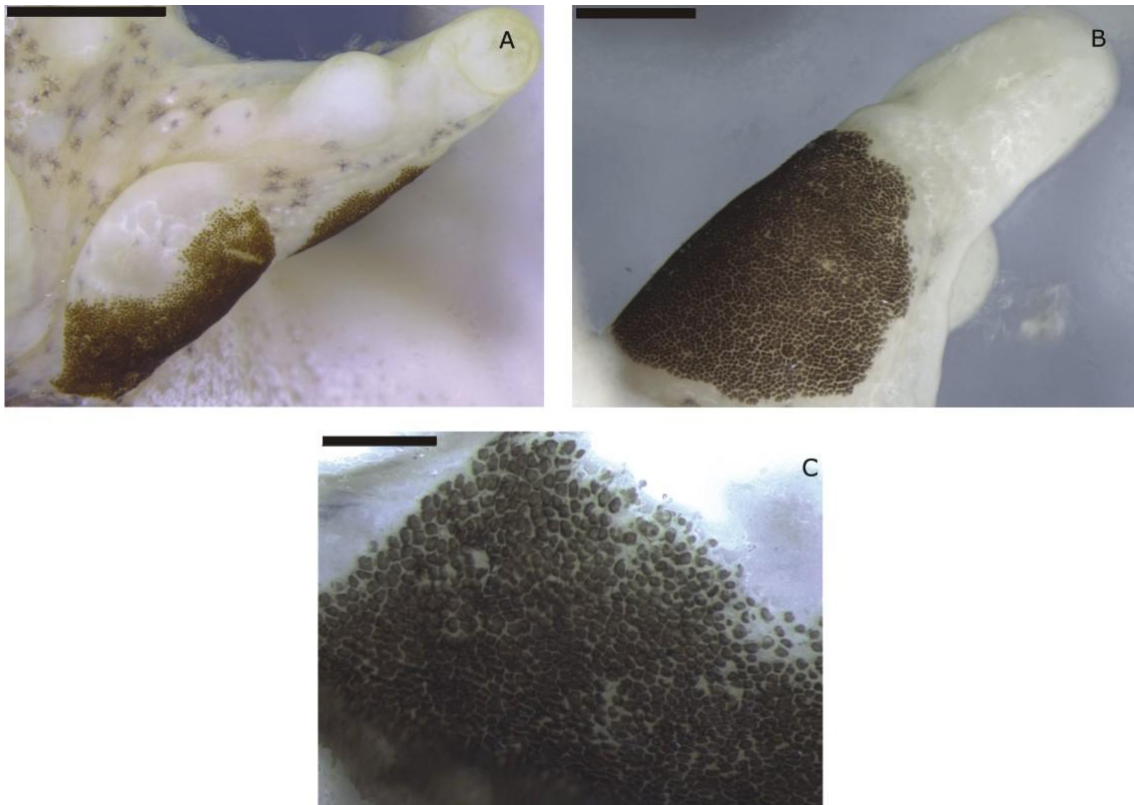
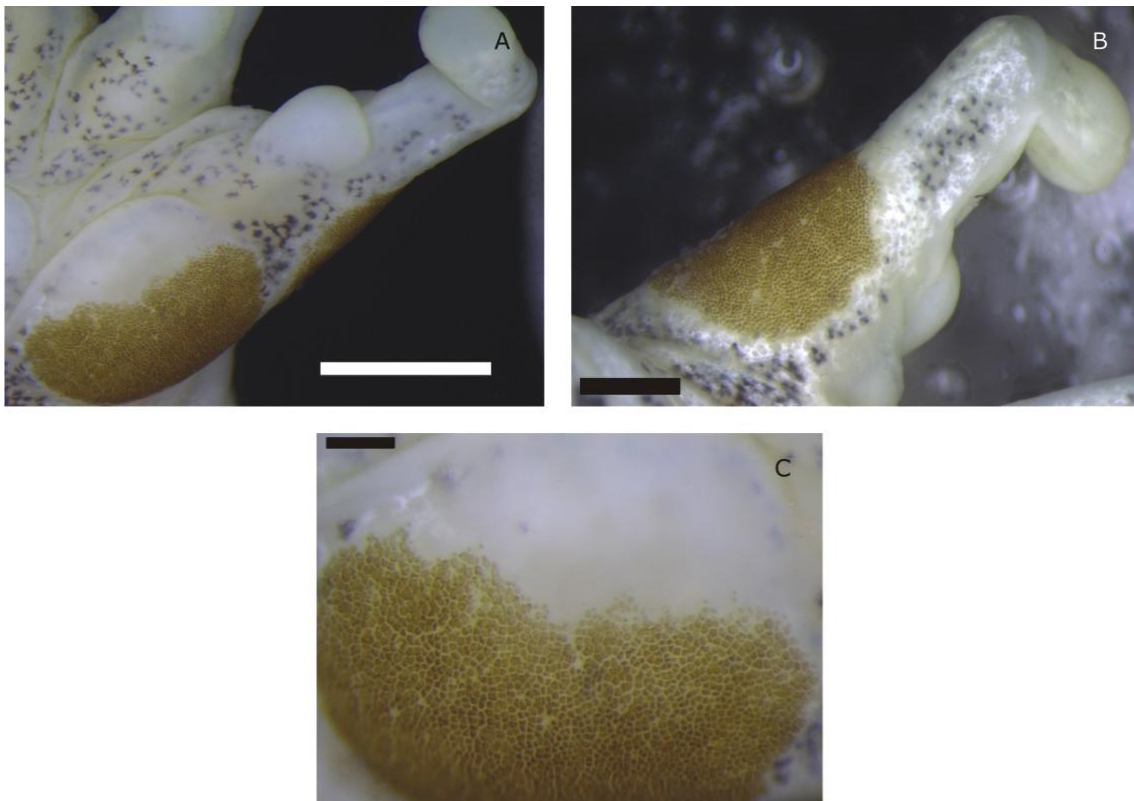


Figura 7. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. albifrons*. Escala: 1mm A; 0.5mm B; 0.2mm C.

***P. cicada* (sem grupo [figura 8]):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrendo completamente o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas a metade medial da porção distal do mesmo calo. Uma pequena interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, na base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando uma meia elipse fina.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo o metacarpo por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 812.5–952.381 PE/mm<sup>2</sup> (média=883.165 e SD=69.9517).



**Figura 8. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. cicada*. Escala: 1mm A; 0.5mm B; 0.2mm C.**



### **Grupo *P. gracilis***

***P. gracilis* (figura 9):** Em vista ventral o calo se estende da base da região medial carpal, recobrando apenas metade medial de pequena região proximal do calo metacarpal interno e se estendendo medialmente cobrindo o terço medial da porção distal do mesmo calo.

Uma grande interrupção completa é formada a partir da porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, não acompanhando a forma da margem distal do calo, mas se estendendo além do calo. A partir da região proximal do metacarpo o tapete de PEs se inicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, na base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (terço proximal da falange proximal) formando um desenho tipo triângulo.

Em vista dorsal apenas as partes metacarpais e da falange do tapete de PEs são visíveis. O tapete de PEs se inicia na região proximal do metacarpo e se estende para a região distal sem forma definida, cobrindo praticamente todo o metacarpo em vista dorsal. A partir da porção proximal do calo subarticular, o tapete se estende medialmente em forma arredondada até a porção 1/3 da falange proximal, onde há a interrupção.

**Densidade:** 2000–3000 PE/mm<sup>2</sup> (média=2416.67 e SD=520.416).

**Variações:** Em um indivíduo, em vista ventral, uma nova interrupção no tapete de PEs é formada no terço proximal da falange proximal e uma linha fina medial de PEs é novamente vista se iniciando e terminando na metade proximal da mesma falange.

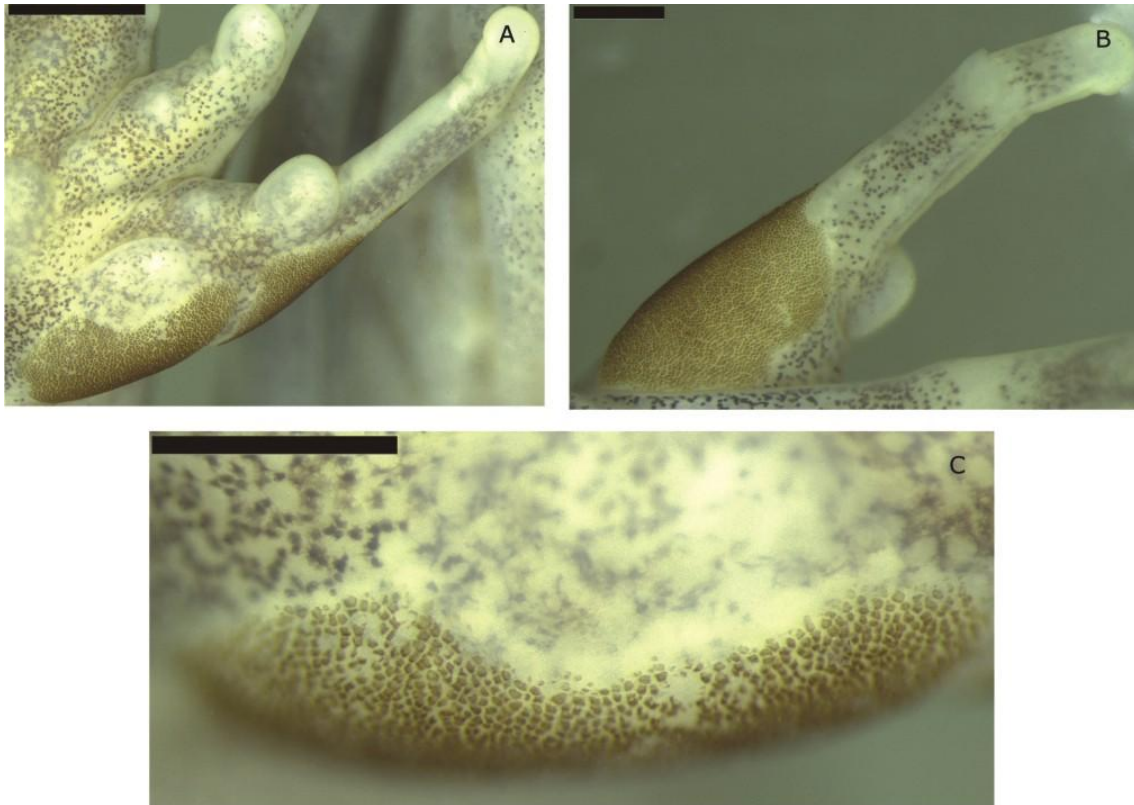


Figura 9. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. gracilis*. Escala: 1mm A; 0.5mm B e C.

***P. evangelistai* (figura 10):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando completamente o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas a região metade ou terço medial da porção distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir da base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando um desenho tipo elipse espessa.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma

semicircular até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 2000–2250 PE/mm<sup>2</sup> (média=2083.33 e SD=144.338).

**Variações:** dois indivíduos apresentam as porções carpais e metacarpais fusionadas em sua porção mais medial.

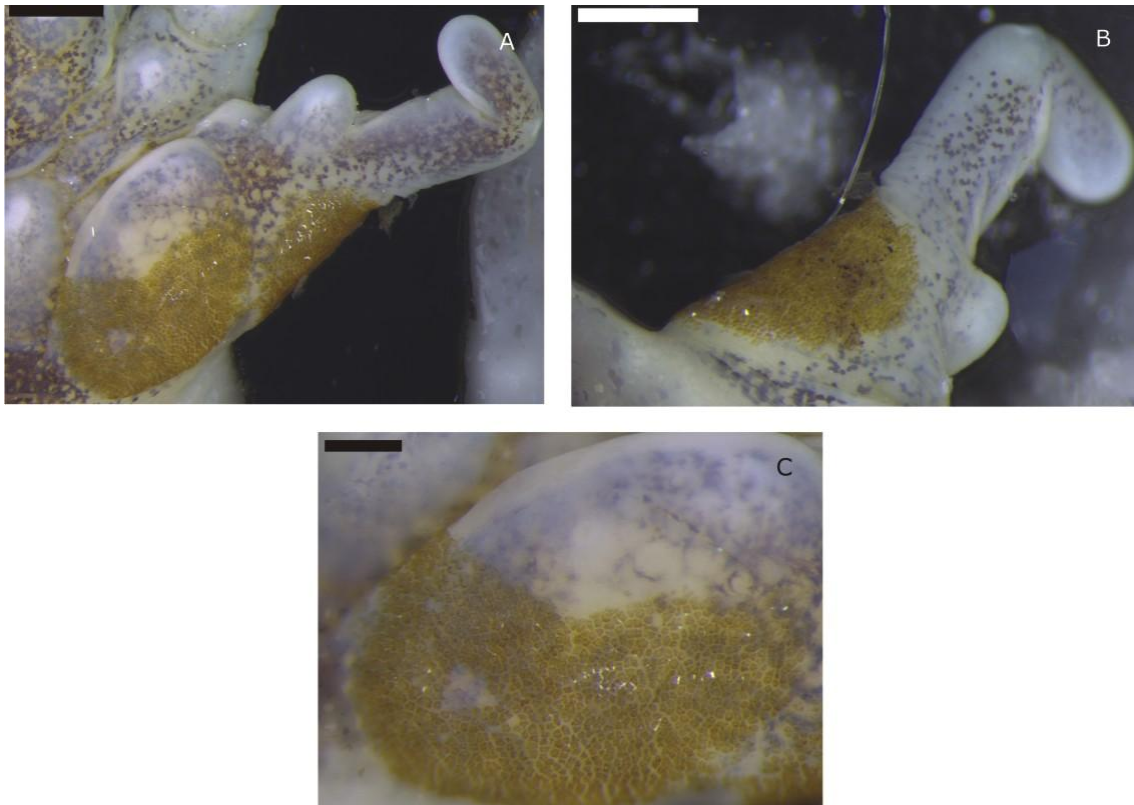


Figura 10. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. evangelistai*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

***P. lisei* (figura 11):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando completamente metade proximal do calo metacarpal interno e a região 2/3 medial de grande parte da porção distal do mesmo calo. No fim da sua porção distal o calo é completamente coberto pelo tapete de PEs que, a partir daí se estende medialmente (diminuindo sua cobertura) até a metade ou terço medial da falange proximal. Portanto, não há interrupção no tapete de PEs entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo e falange proximal. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. Essa linha se une à região proximal do metacarpo que se estende em forma semicircular até parte da falange proximal cobrindo o metacarpo por completo e diminuindo a área de cobertura a partir da articulação metacarpo-falange proximal.

**Densidade:** 3500–5000 PE/mm<sup>2</sup> (média=4333.33 e SD=763.763).

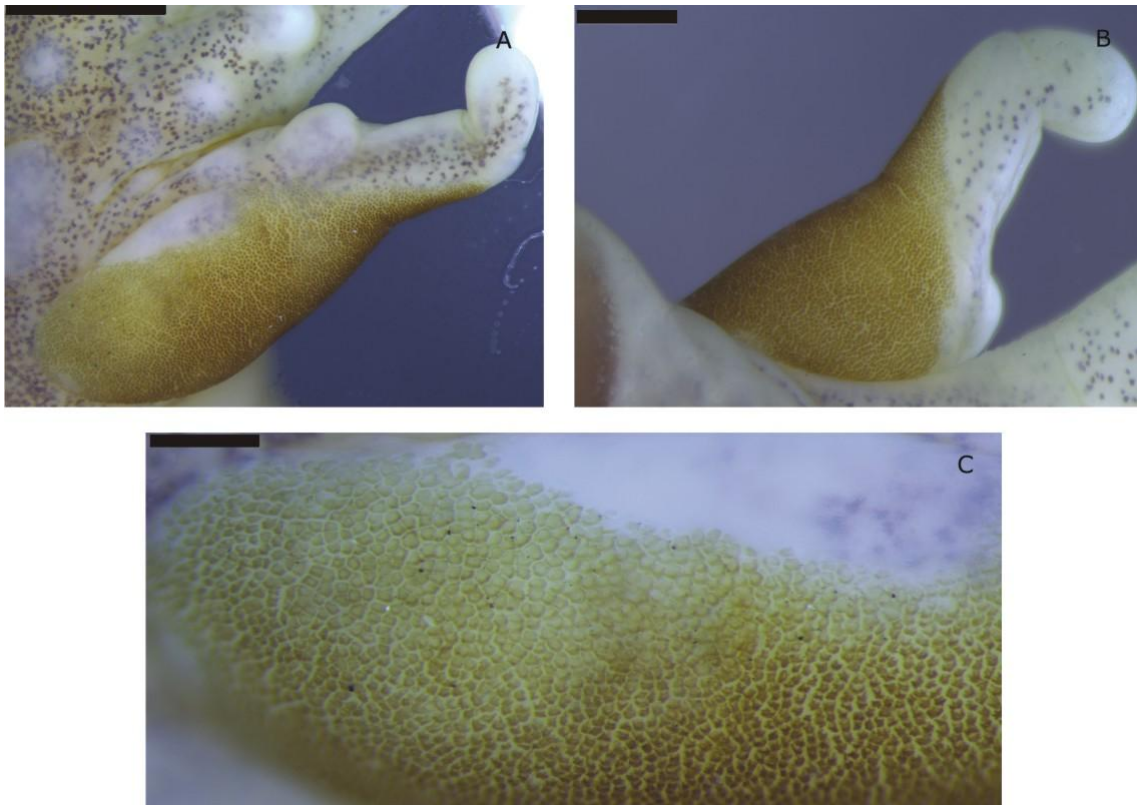


Figura 11. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. lisei*. Escala: 1mm A; 0.5mm B; 0.2mm C.

### **Grupo *P. olfersii***

***P. olfersii* (figura 12):** Em vista ventral o calo se estende da base da região medial carpal, recobrando por completo o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas os dois terços mediais da porção complementar distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, na base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (terço proximal da falange proximal) formando um desenho tipo semicírculo.

Em vista dorsal apenas a parte metacarpal do tapete de PEs sé visível. O tapete de PEs se inicia em ângulo agudo na região proximal do metacarpo e se estende para a região distal em forma ovoide cobrindo, no máximo, metade medial do metacarpo. A partir da porção proximal do calo subarticular, o tapete se estende medialmente até atingir a região correspondente à apical do calo subarticular (terço proximal da falange proximal).

**Densidade:** 1388.89–1666.67 PE/mm<sup>2</sup> (média=1566.14 e SD=763.763).

**Variações:** Em vista ventral um indivíduo apresentou a porção metacarpal do tapete de PEs como uma fina elipse medial de mesma extensão da descrita.

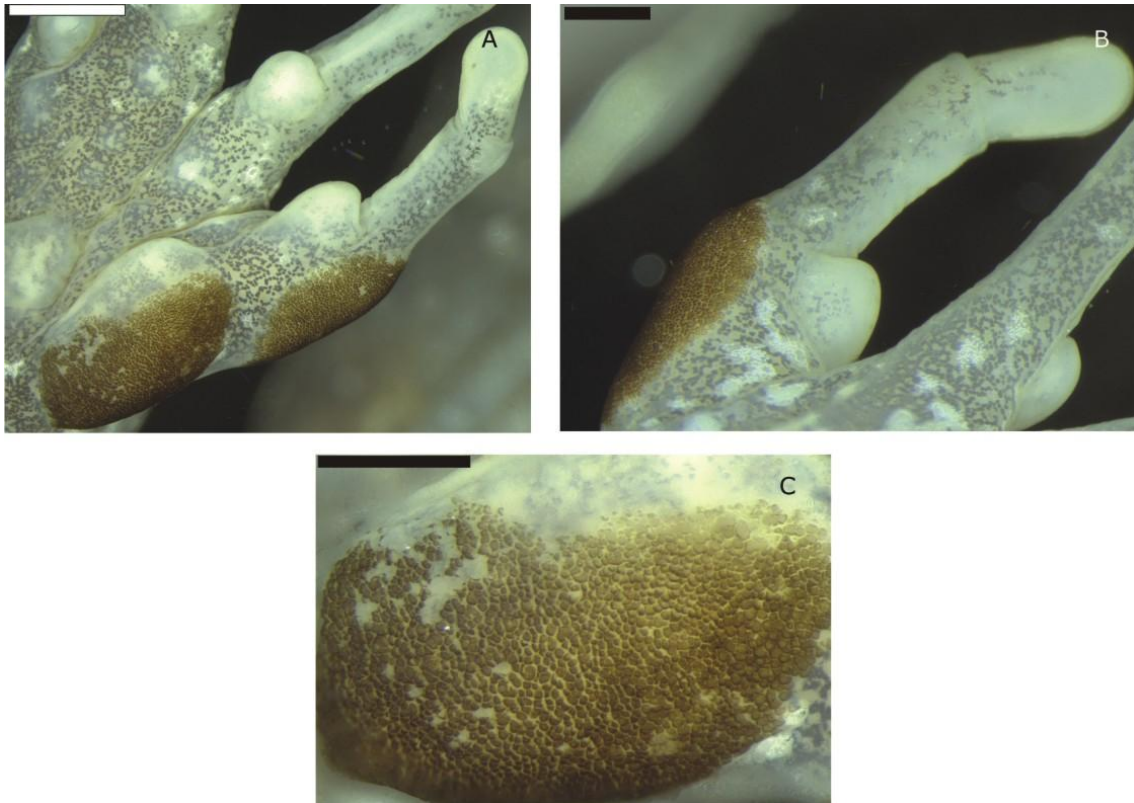


Figura 12. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. olfersii*. Escala: 1mm A; 0.5mm B e C.

***P. orophilus* (figura 13):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando completamente o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas a metade medial da porção distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo discretamente lateralmente, e, a partir da metade do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando um desenho tipo elipse fina.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma



semicircular até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 2000–2200 PE/mm<sup>2</sup> (média=2108.33 e SD=101.036).

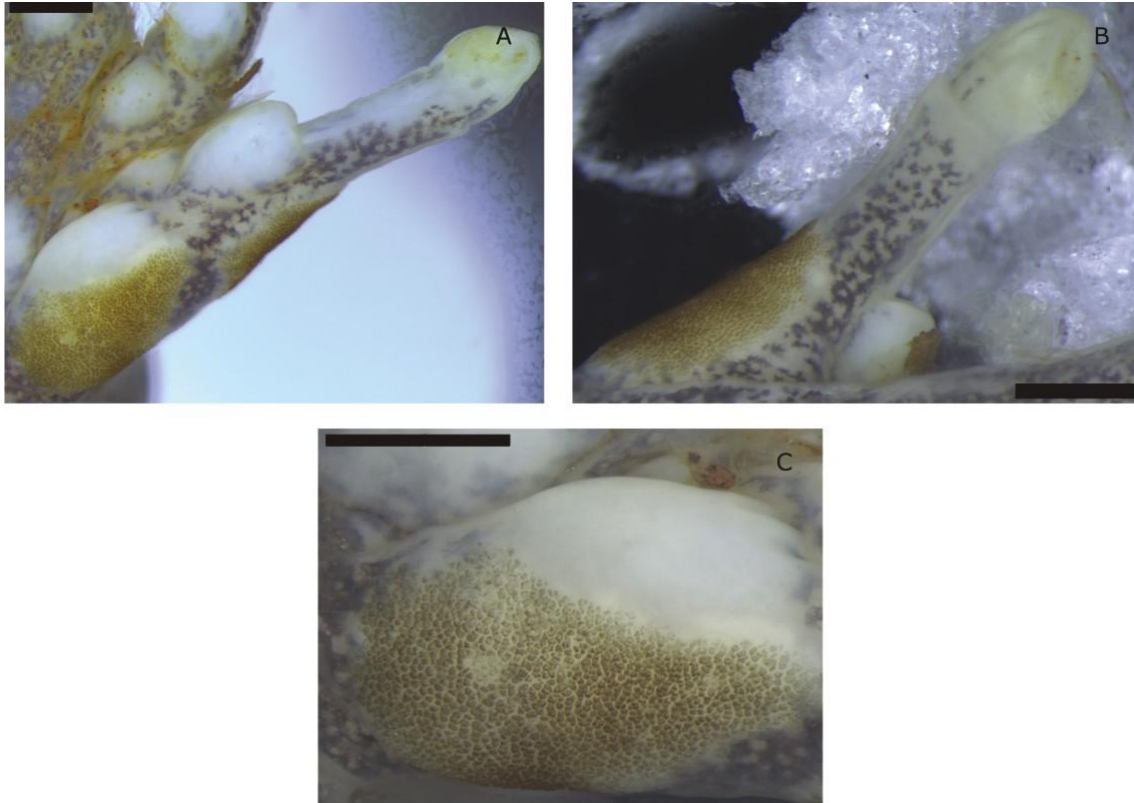


Figura 13. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. orophilus*. Escala: 0.5mm A, B e C.

***P. feioi* (figura 14):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrimo completamente o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas a metade ou os dois terços mediais da porção distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo discretamente lateralmente, e, a partir da base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando um desenho tipo elipse espessa.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 1416.67–1800 PE/mm<sup>2</sup> (média=1619.84 e SD=192.7).

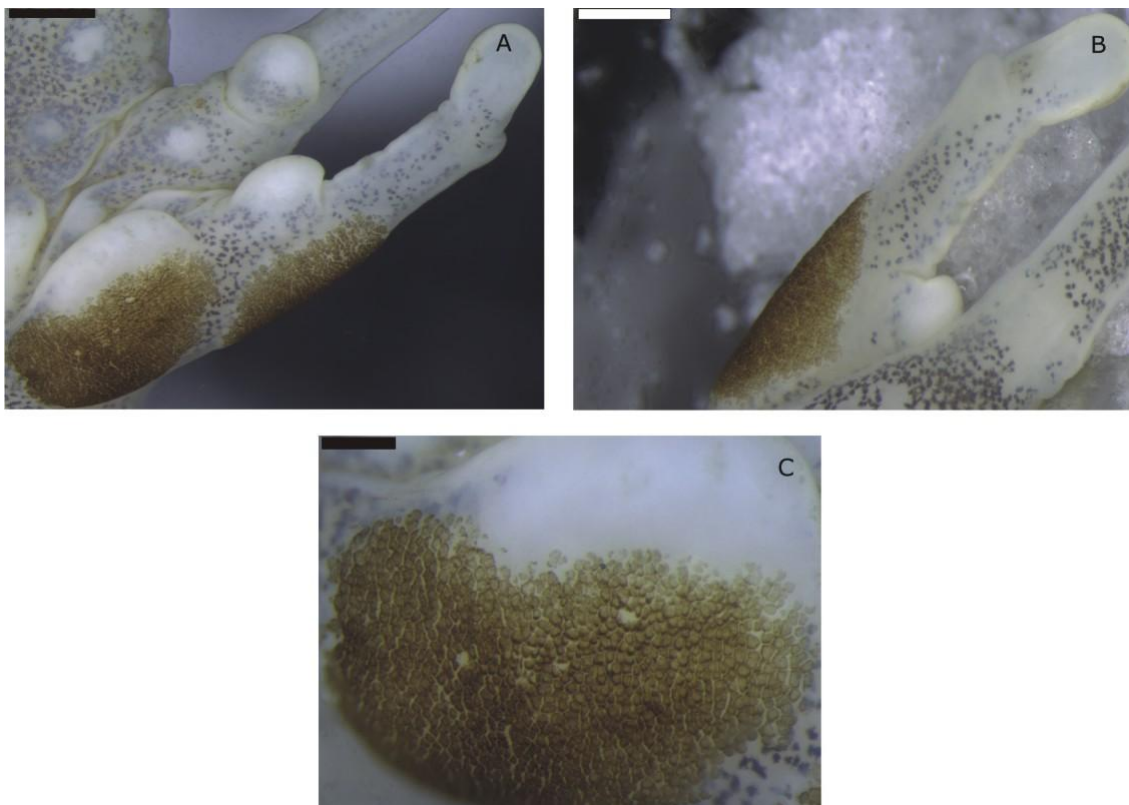


Figura 14. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. feioi*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

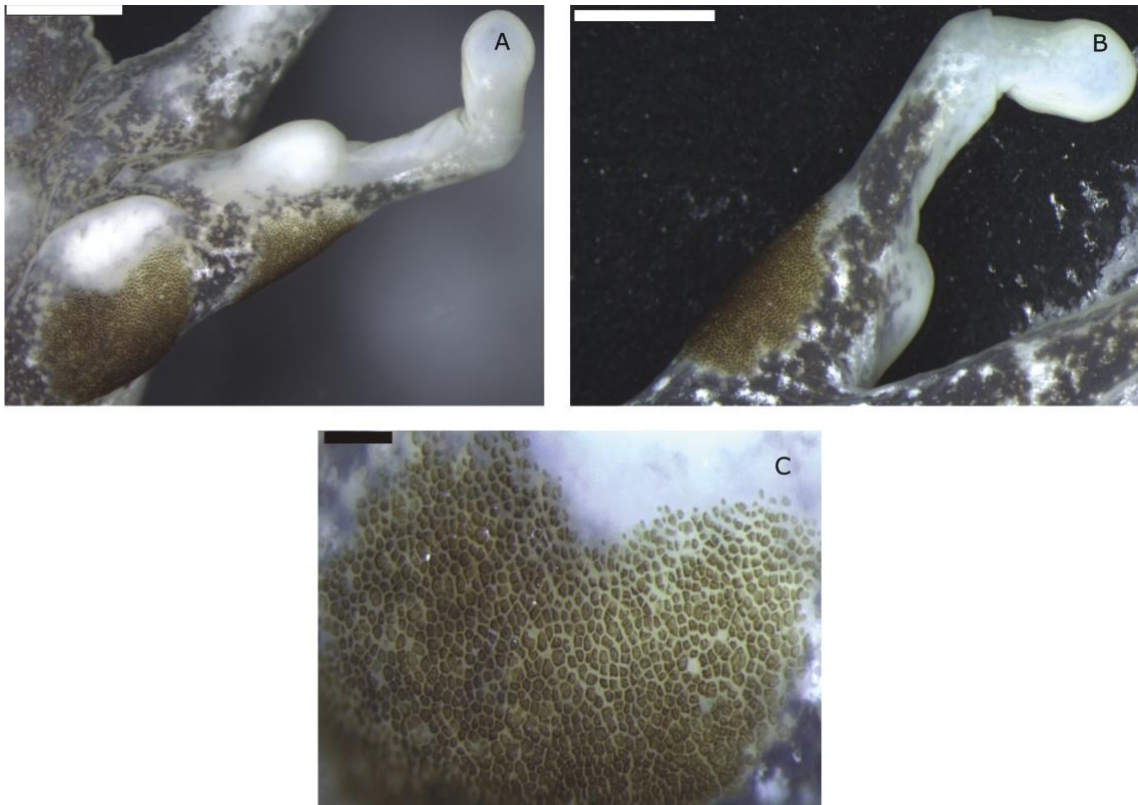
***P. lateristriga* (figura 15):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando os dois terços mediais ou completamente o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas a metade ou os dois terços mediais da porção distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se



estendendo lateralmente, e, a partir da base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular formando um desenho tipo elipse fina. O tapete pode ou não cobrir o primeiro terço proximal da falange proximal, formando uma linha fina na margem externa do dedo.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal (quando presente). A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma de elipse espessa até a articulação metacarpo-falange proximal, ou terço proximal da falange proximal, cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 1692.31–2086.96 PE/mm<sup>2</sup> (média=1896.12 e SD=197.644).



**Figura 15.** Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. lateristriga*. Escala: 1mm A e B; 0.2mm C.

***P. maximus* (figura 16):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrendo metade medial ou completamente o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas metade ou os dois terços mediais da porção distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir da base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando um desenho tipo elipse fina.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma de elipse espessa até a articulação metacarpo-falange proximal, ou primeiro terço da falange proximal, cobrindo metade ou os dois terços mediais do metacarpo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 857.143–1111.11 PE/mm<sup>2</sup> (média=1022.75 e SD=143.529).

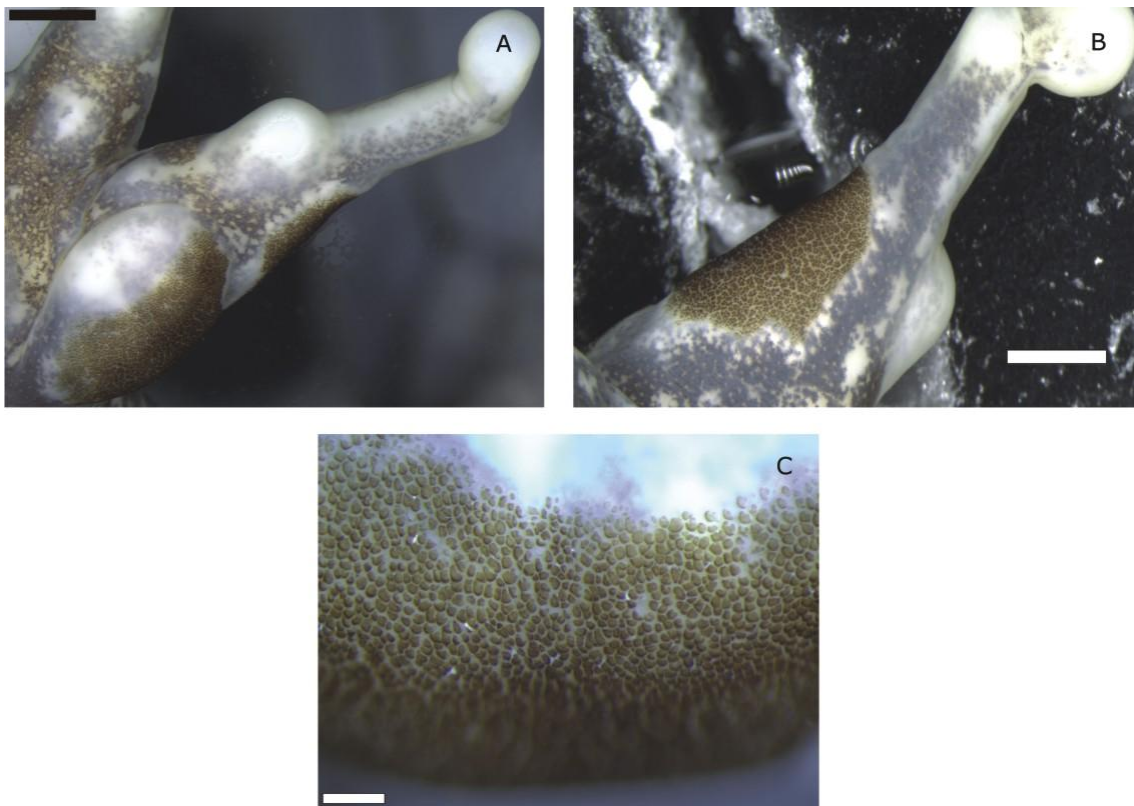


Figura 16. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. maximus*. Escala: 1mm A e B; 0.2mm C.

**Grupo *P. biligonigerus*:**

***P. biligonigerus* (figura 17):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando completamente o quinto proximal do calo metacarpal interno e apenas a margem da região medial da porção distal do mesmo calo. O restante do tapete se encontra fora do calo na superfície medial do carpo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir da base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando um desenho tipo elipse fina.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma de retângulo até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo o metacarpo por completo.

**Densidade:** 2250–3000 PE/mm<sup>2</sup> (média=2659.09 e SD=379.62).

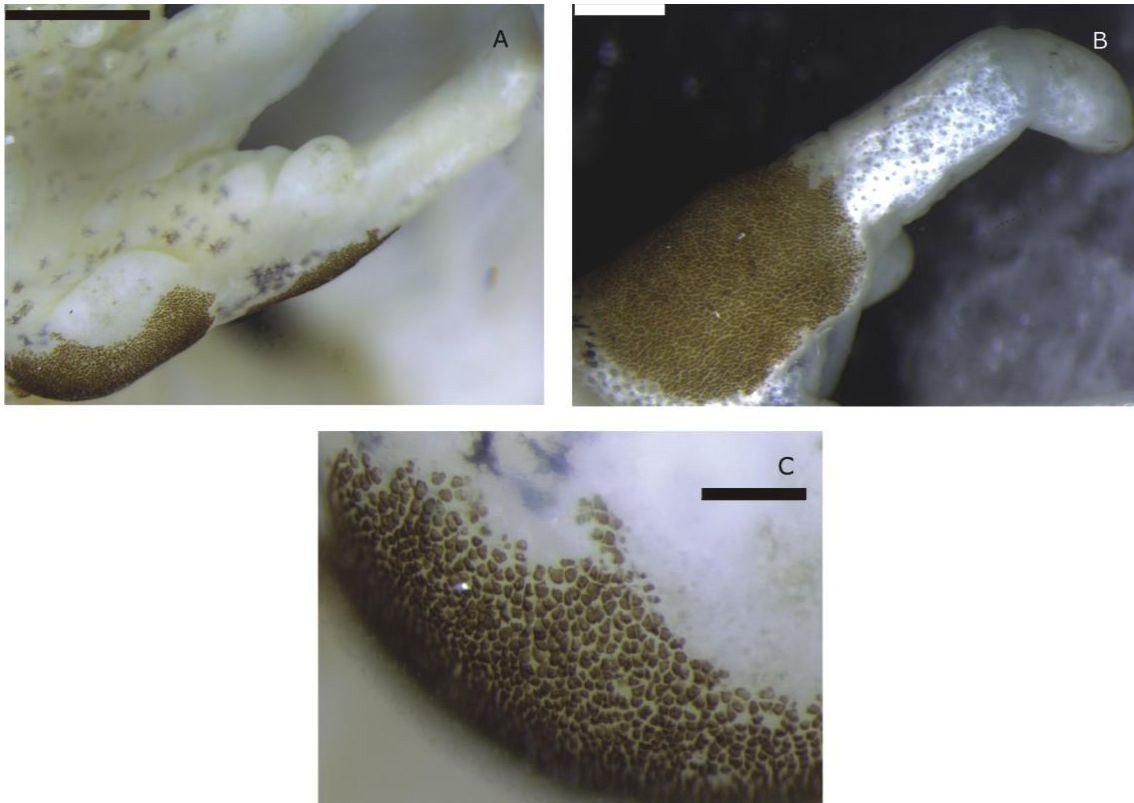


Figura 17. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. biligonigerus*. Escala: 1mm A; 0.5mm B; 0.2mm C.

***P. marmoratus* (figura 18):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando apenas a margem da região medial ao longo do calo, podendo não alcançar sua porção distal. O restante do tapete se encontra fora do calo na superfície medial do carpo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir da base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando um desenho tipo elipse fina ou espessa.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma de

retângulo a semicírculo até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo o metacarpo por completo.

**Densidade:** 2500–3333.33 PE/mm<sup>2</sup> (média=2861.11 e SD=427.633).

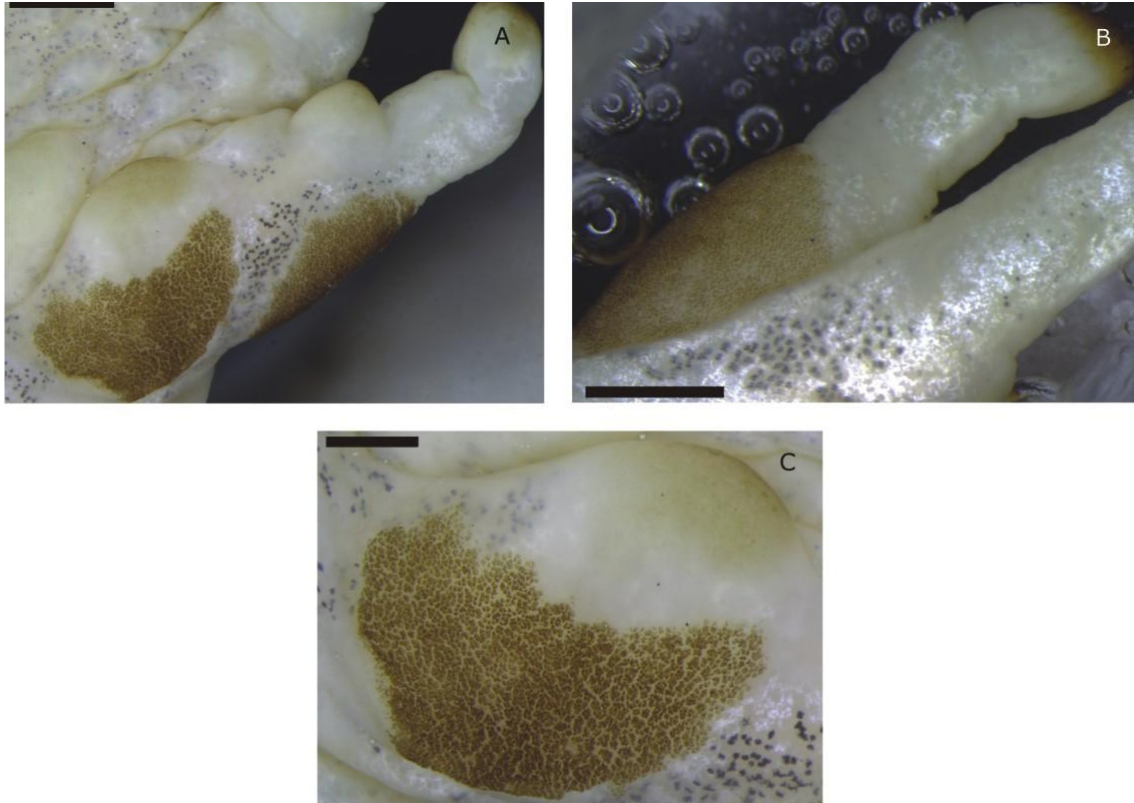


Figura 18. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. marmoratus*. Escala: 1mm A e B; 0.5mm C.

***P. riograndensis* (figura 19):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando apenas a margem da região medial ao longo do calo, podendo não alcançar sua porção distal. O restante do tapete se encontra fora do calo na superfície medial do carpo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir da base do calo subarticular, se estende medialmente até a porção distal do calo subarticular (não chega à falange proximal) formando um desenho tipo elipse fina ou espessa.



Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma de retângulo a semicírculo até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo apenas parte do metacarpo.

**Densidade:** 2333.33–2666.67 PE/mm<sup>2</sup> (média=2476.19 e SD=171.693).

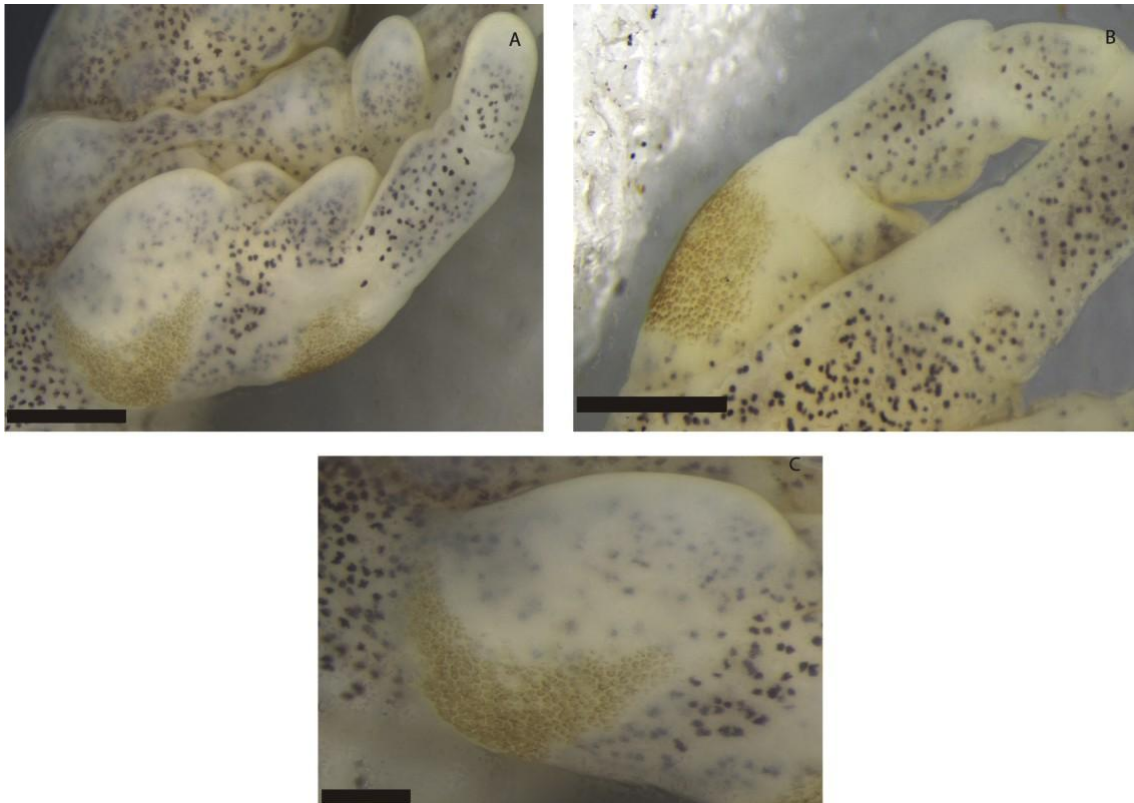


Figura 19. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. riograndensis*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

### Grupo *P. henselii*

***P. henselii* (figura 20):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando a metade 1/3 da porção proximal do calo metacarpal interno e apenas a região ¼ ou margem medial de grande parte da porção distal do mesmo calo. No fim da sua porção distal o calo não é coberto pelo tapete de PEs que, a partir daí se

estende medialmente (diminuindo sua cobertura) até a porção 1/3 da falange proximal. Portanto, não há interrupção no tapete de PEs entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo e falange proximal. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. Essa linha se une à região proximal do metacarpo que se estende em forma semicircular até parte da falange proximal cobrindo o metacarpo por completo e diminuindo a área de cobertura a partir da articulação metacarpo-falange proximal.

**Densidade:** 2125-2625 PE/mm<sup>2</sup> (média=2458.33 e SD=288.675).

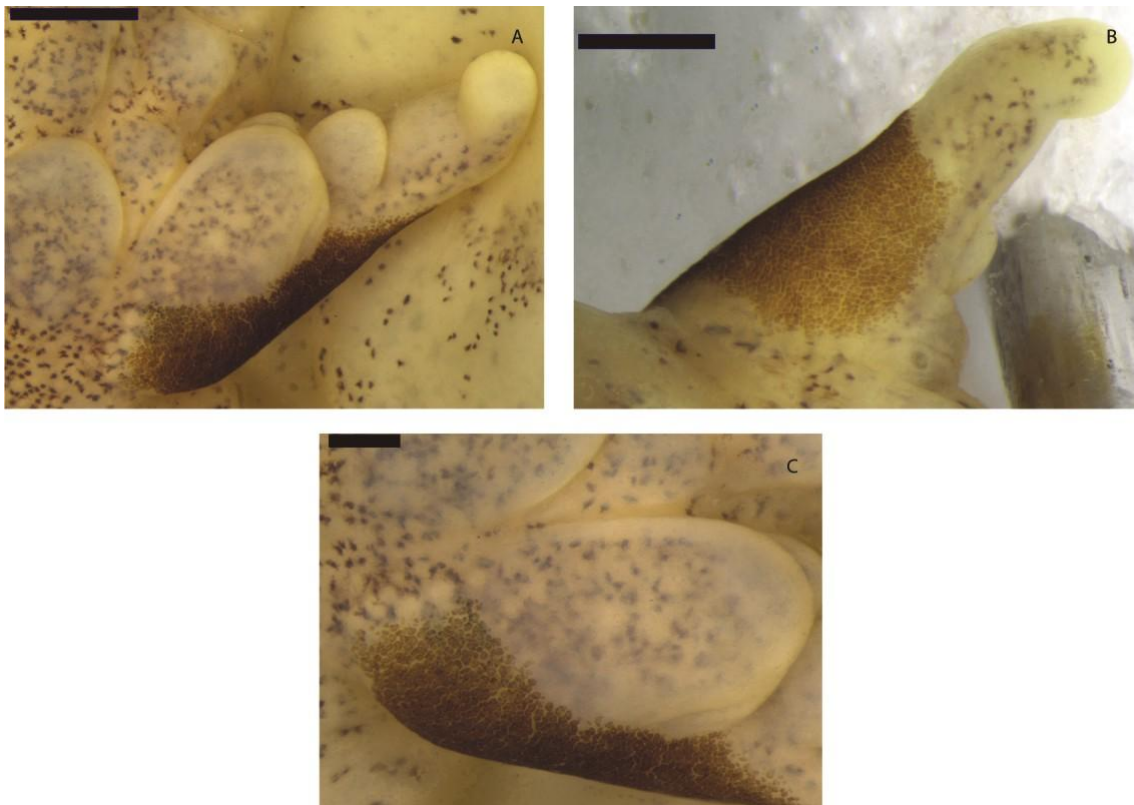


Figura 20. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. henselii*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

#### 4.1.1.2 Clado *P. signifer*

***P. nattereri* (figura 21):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando metade medial do terço proximal do calo metacarpal interno e apenas o terço medial da porção distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, não acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo e na base do calo subarticular se torna paralelo ao eixo do dedo ocupando aproximadamente a metade medial do dedo. O tapete se estende até a porção distal (junto à articulação com a falange distal) da falange proximal.

Em vista dorsal apenas as partes metacarpais e da falange do tapete de PEs são visíveis. O tapete de PEs se inicia na região proximal do metacarpo e se estende até o terço proximal da falange proximal em forma de meia elipse cobrindo praticamente toda a porção em vista superior do metacarpo. A partir daí, se estende em forma de linha medial (ocupando apenas a extremidade do dedo) até a porção final da falange proximal.

**Densidade:** 676.471-851.85 PE/mm<sup>2</sup> (média=755.054 e SD=89.0968).



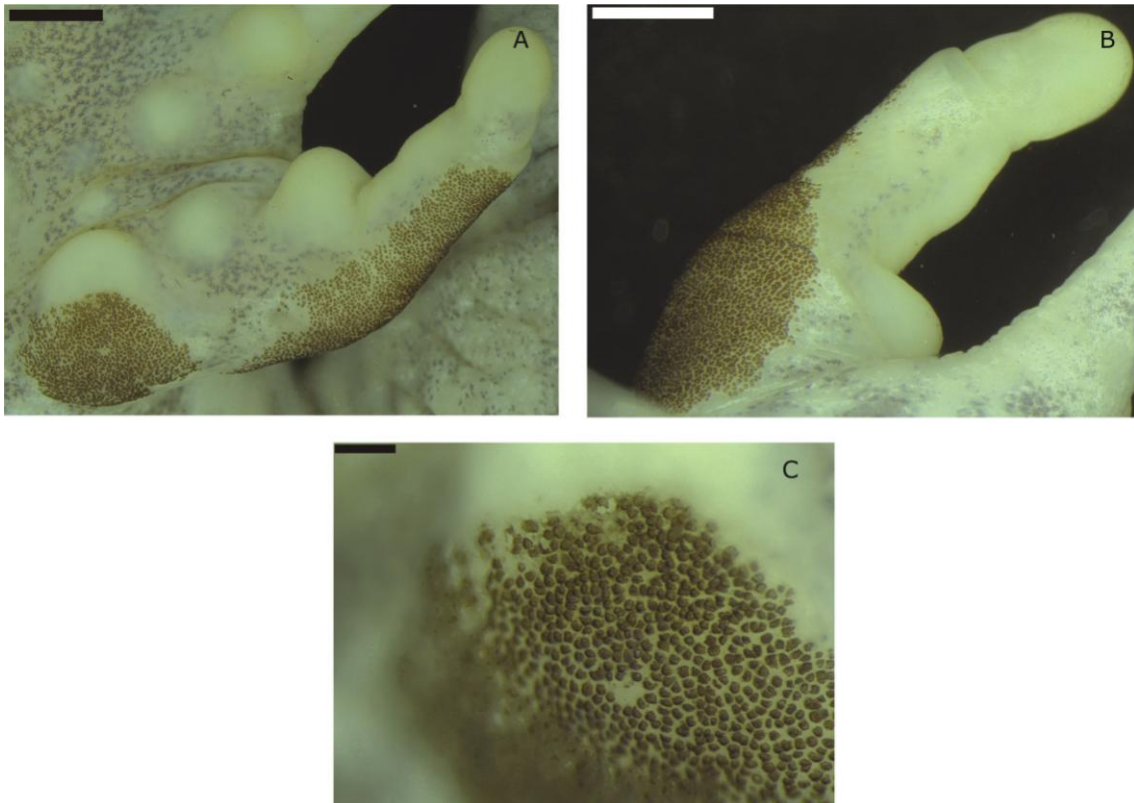


Figura 21. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. nattereri*. Escala: 1mm A e B; 0.2mm C.

***P. crombiei* (figura 22):** Em vista ventral o calo se estende da base da região medial carpal, recobrando a metade medial de todo calo metacarpal interno. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente e na base do calo subarticular se torna paralelo ao eixo do dedo ocupando aproximadamente o quarto medial do dedo. O tapete se estende até a articulação falange proximal-falange distal.

Em vista dorsal apenas as partes metacarpais e da falange do tapete de PEs são visíveis. O tapete de PEs se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma oval até a região distal da falange proximal cobrindo praticamente toda a porção em vista superior do metacarpo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 1055.56-1105.26 PE/mm<sup>2</sup> (média=1086.94 e SD=27.3065).

**Variações:** em vista ventral um indivíduo apresentou o tapete de PEs com início mais proximal, no carpo abaixo do calo metacarpal interno. Também foi observado que o fim tapete pode não acompanhar a margem distal do calo metacarpal interno e se estender um pouco mais distalmente a esse. Um indivíduo não apresentou a interrupção no tapete de PEs entre carpo-metacarpo (num mesmo indivíduo com uma mão com interrupção e outra sem). Entretanto, apenas a região mais medial é fusionada.

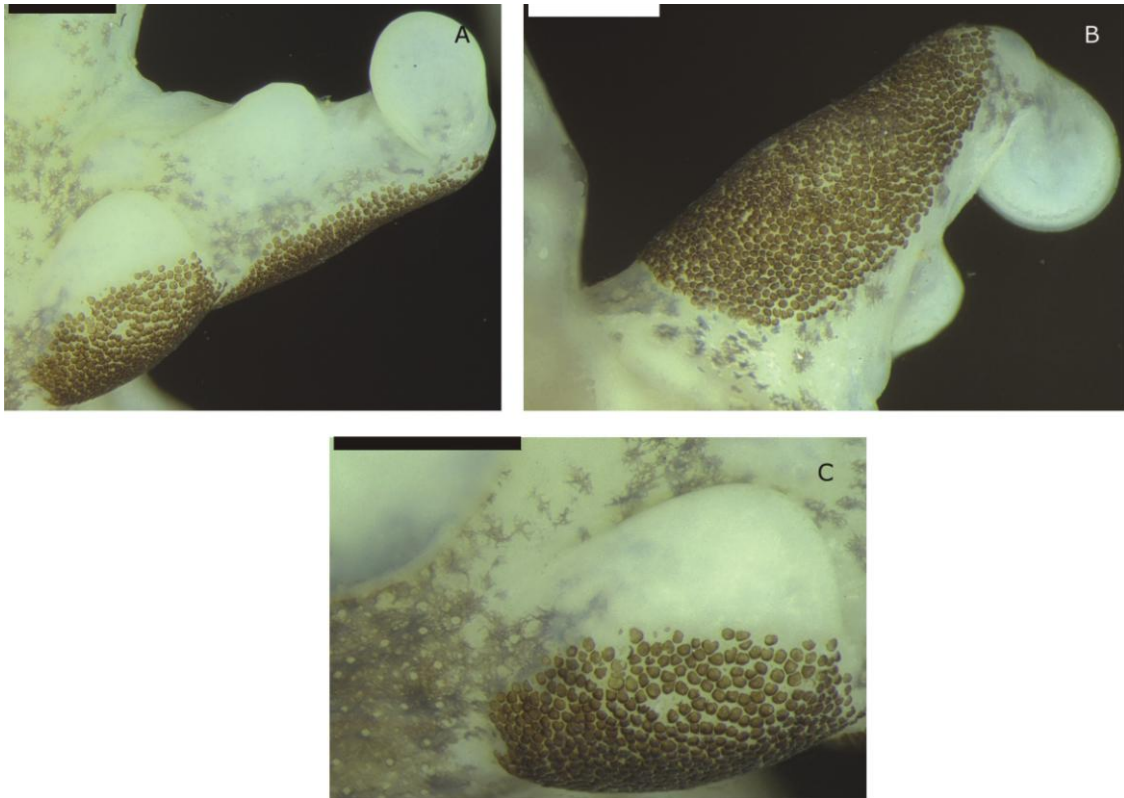
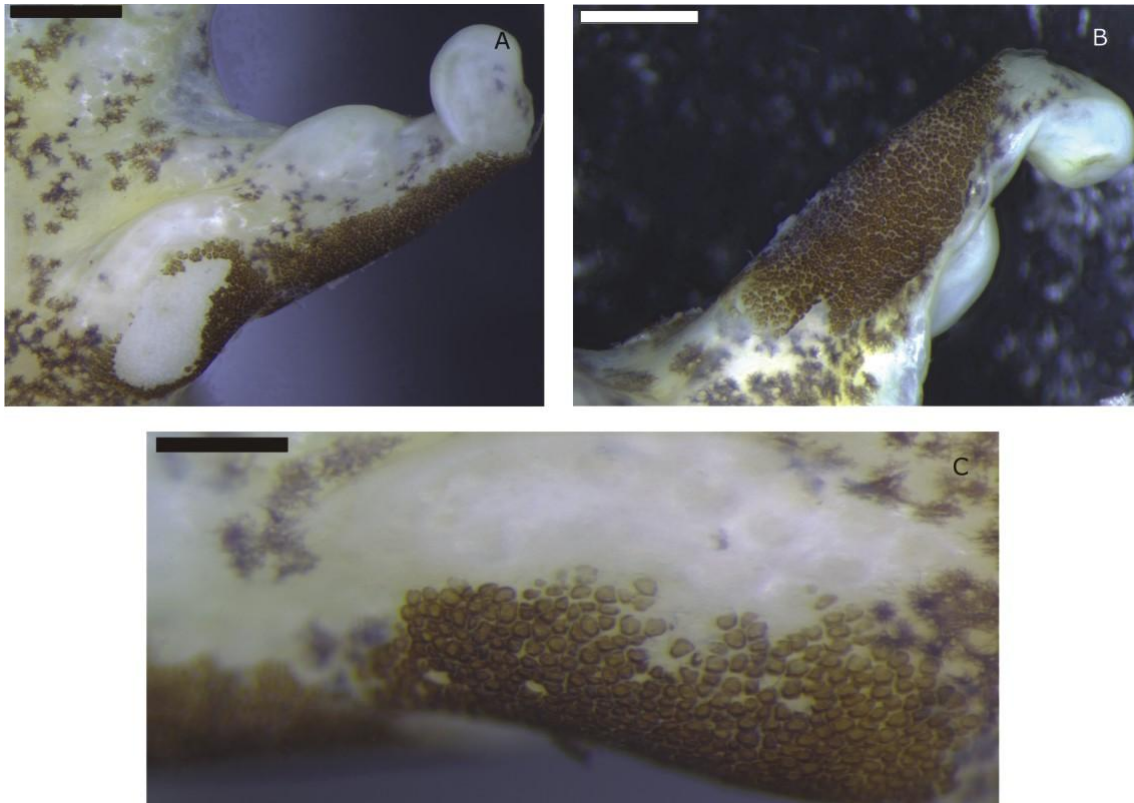


Figura 22. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. crombiei*. Escala: 0.5mm A, B e C.

***P. moreirae* (figura 23):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrendo de metade a dois terços mediais de toda a extensão do calo metacarpal interno em um desenho semicircular. Na base do calo subarticular o tapete de PEs se torna paralelo ao eixo do dedo ocupando aproximadamente o quarto medial do dedo e se estende até a articulação falange proximal-falange distal. Pode ou não haver interrupção no tapete de PEs entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo. Ainda assim, é possível reconhecer que são duas porções distintas, pela forma não uniforme das bordas dos tapetes que se encontram.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação falange proximal-falange distal cobrindo parte do metacarpo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 1250-1363.64 PE/mm<sup>2</sup> (média=1315.66 e SD=58.8443).



**Figura 23.** Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. moreirae*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

***P. signifer* (figura 24):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrimdo a metade medial de toda a extensão do calo metacarpal interno em um desenho semicircular. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente e na base do calo subarticular se torna paralelo ao eixo do dedo

ocupando aproximadamente o quarto medial do dedo. O tapete se estende até a articulação falange proximal-falange distal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação falange proximal-falange distal cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 480-538.462 PE/mm<sup>2</sup> (média=506.154 e SD=29.7126).

**Variações:** Em vista ventral um indivíduo apresentou o terço proximal do calo metacarpal completamente coberta pelo tapete de PEs.

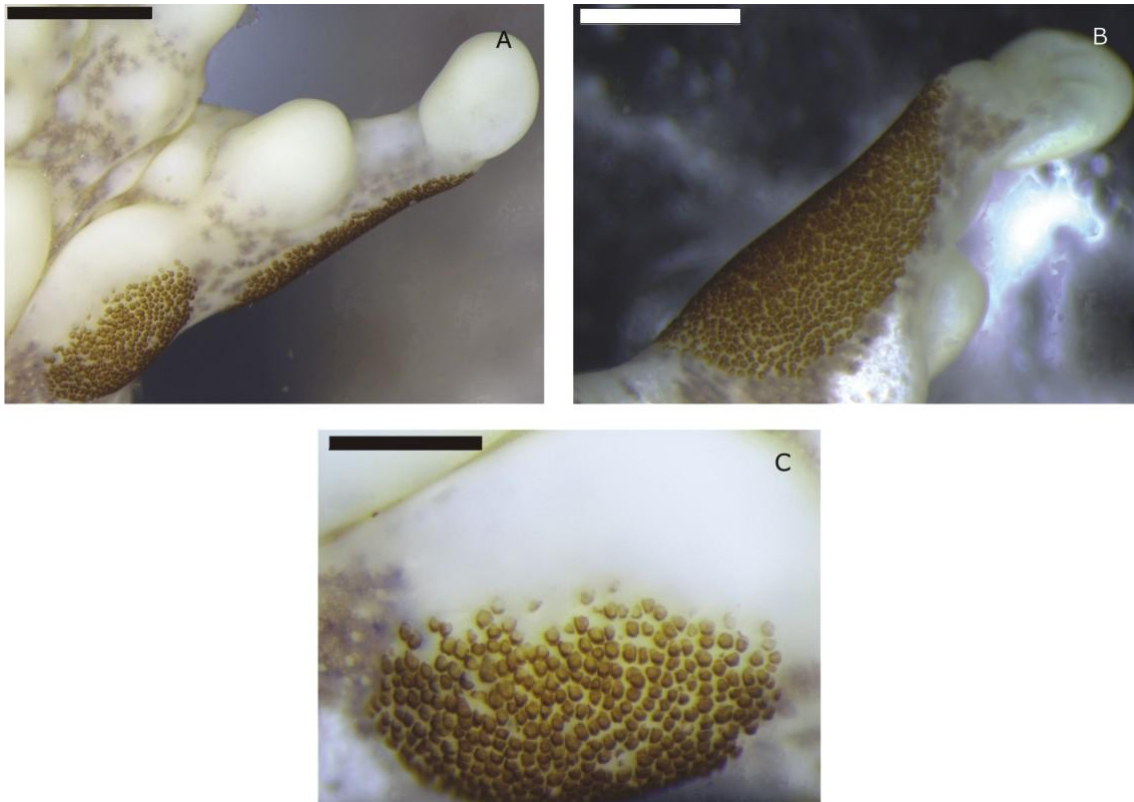


Figura 24. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. signifer*. Escala: 1mm A; 0.5mm B; 0.2mm C.



***P. nanus* (figura 25):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrimdo a metade medial de toda a extensão do calo metacarpal interno em um desenho semicircular. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente e na base do calo subarticular se torna paralelo ao eixo do dedo ocupando aproximadamente o quarto medial do dedo. O tapete se estende até a articulação falange proximal-falange distal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação falange proximal-falange distal cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 1272.73-1400 PE/mm<sup>2</sup> (média=1335.35 e SD=63.6604).

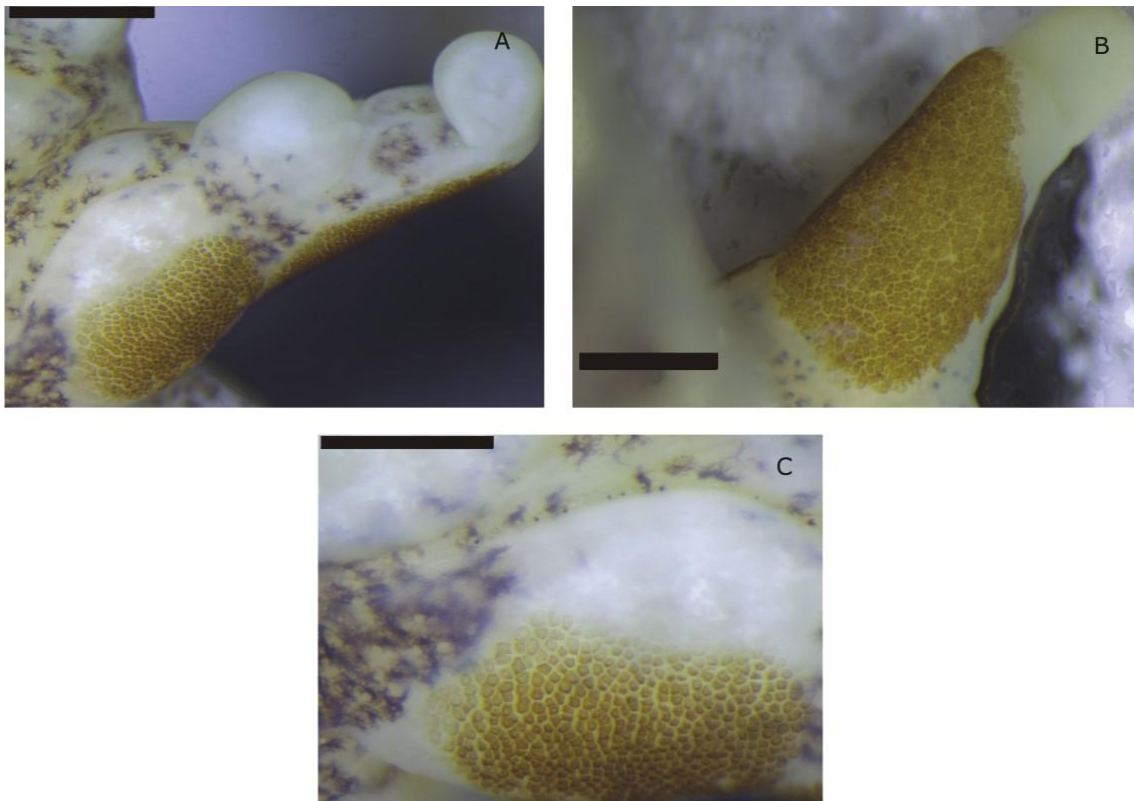


Figura 25. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. nanus*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

### **Grupo *P. deimaticus***

***P. deimaticus* (figura 26):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando metade ou o terço medial de toda a extensão do calo metacarpal interno em um desenho semicircular. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente e na base do calo subarticular se torna paralelo ao eixo do dedo ocupando aproximadamente o quarto medial do dedo. O tapete se estende até a articulação falange proximal-falange distal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação falange proximal-falange distal cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 681.818-866.667 PE/mm<sup>2</sup> (média=789.971 e SD=96.3557).

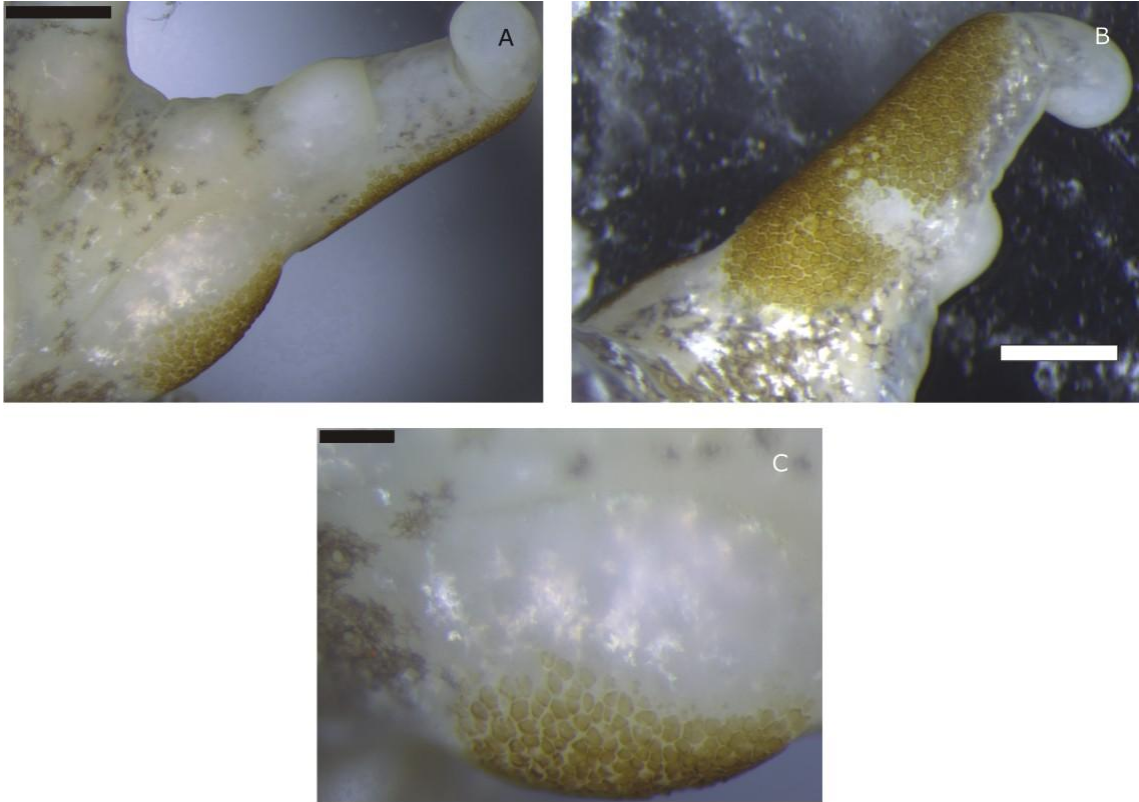


Figura 26. . Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. deimaticus*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

***P. rupestris* (figura 27):** os espécimes apresentaram calo pouquíssimo queratinizado, impossibilitando a descrição das projeções individualmente. Não sabemos se essa é a condição normal do calo ou a queratinização foi perdida em coleção.

Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando metade ou os dois terços mediais de toda a extensão do calo metacarpal interno em um desenho semicircular. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente e na base do calo subarticular se torna paralelo ao eixo do dedo ocupando aproximadamente o quarto medial do dedo. O tapete se estende até a articulação falange proximal-falange distal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação falange proximal-falange distal cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.



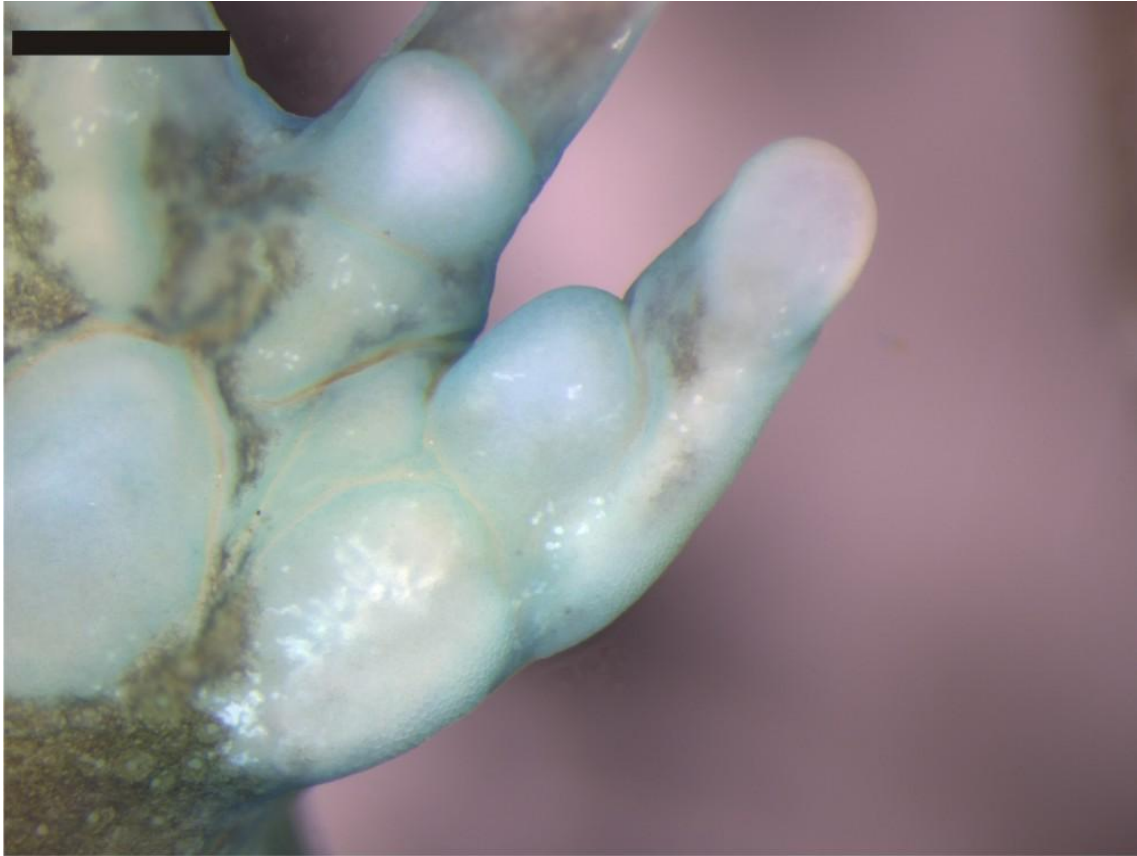


Figura 27. Vista ventral da calosidade de *P. rupestris*. Escala: 0.5mm.

***P. erythros* (figura 28):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrendo a metade medial de toda a extensão do calo metacarpal interno em um desenho semicircular. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente e na base do calo subarticular se torna paralelo ao eixo do dedo ocupando aproximadamente 1/4 medial do dedo. O tapete se estende até a articulação falange proximal-falange distal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma

semicircular até a articulação falange proximal-falange distal cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

**Densidade:** 500-862.069 PE/mm<sup>2</sup> (média=688.257 e SD=181.466).

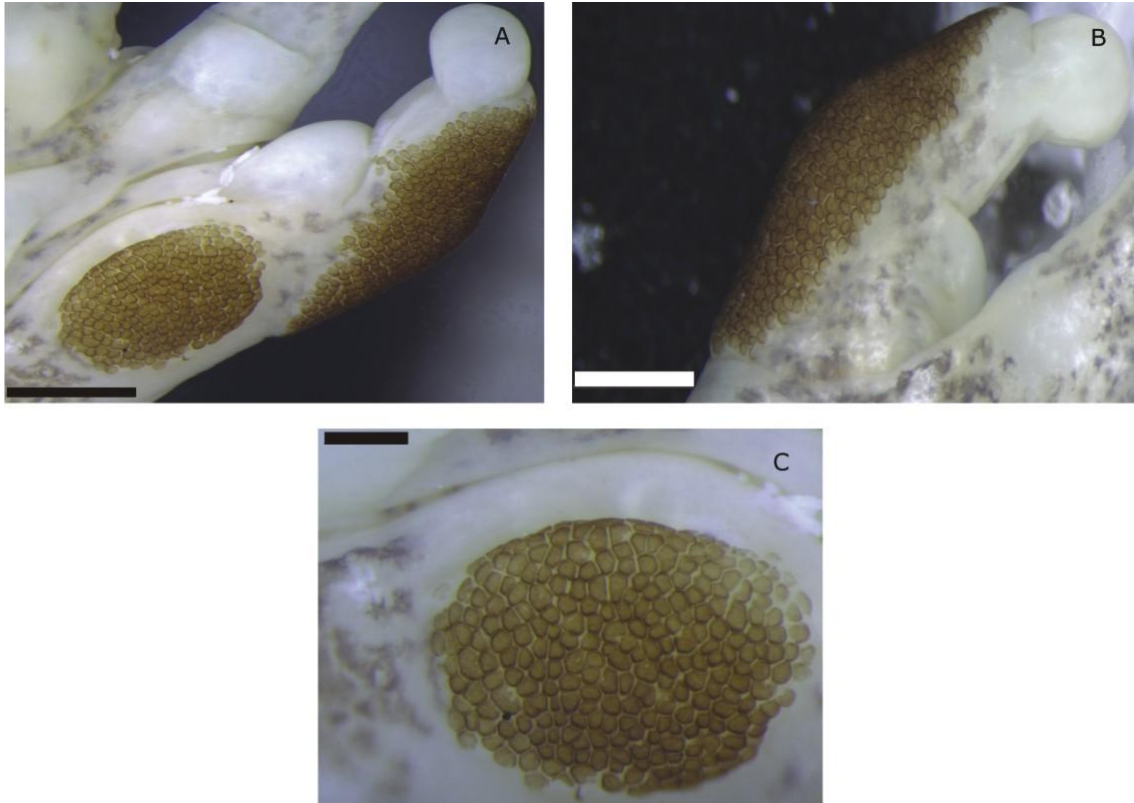


Figura 28. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. erythros*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

#### 4.1.2 *Pseudopaludicola*

**Visão geral:** ver visão geral de *Physalaemus*.

***P. serrana* (figura 29):** Em vista ventral o calo se estende da base da região medial carpal, recobrendo por completo o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas a metade medial da porção complementar distal do mesmo calo. Não há interrupção no tapete de PEs entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo e a partir do

calo subarticular o tapete se direciona medialmente e se afina até atingir o terço proximal da falange proximal onde termina em forma de ápice.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal. O tapete se inicia no carpo em ângulo agudo sobre toda a superfície visível do carpo, se estende acompanhando a margem lateral do metacarpo também o cobrindo por completo e a partir da articulação metacarpo-falange segue em direção medial terminando no início do primeiro terço da falange proximal.

**Densidade:** 1687.5-1785.71 PE/mm<sup>2</sup> (média=1750.33 e SD=54.5575).

**Variações:** Em vista ventral dois indivíduos apresentaram o tapete de PEs alcançando o início do terço final da falange proximal.

Em vista dorsal dois indivíduos apresentaram apenas o terço final do metacarpo totalmente coberta pelos calos. A partir da articulação metacarpo-falange segue em direção medial, porém terminando como ápice no início da porção do terço final da falange proximal.

As PEs vistas lateralmente apresentam da forma de cone com ápice bem visível, até semicírculos mais achatados num mesmo indivíduo.

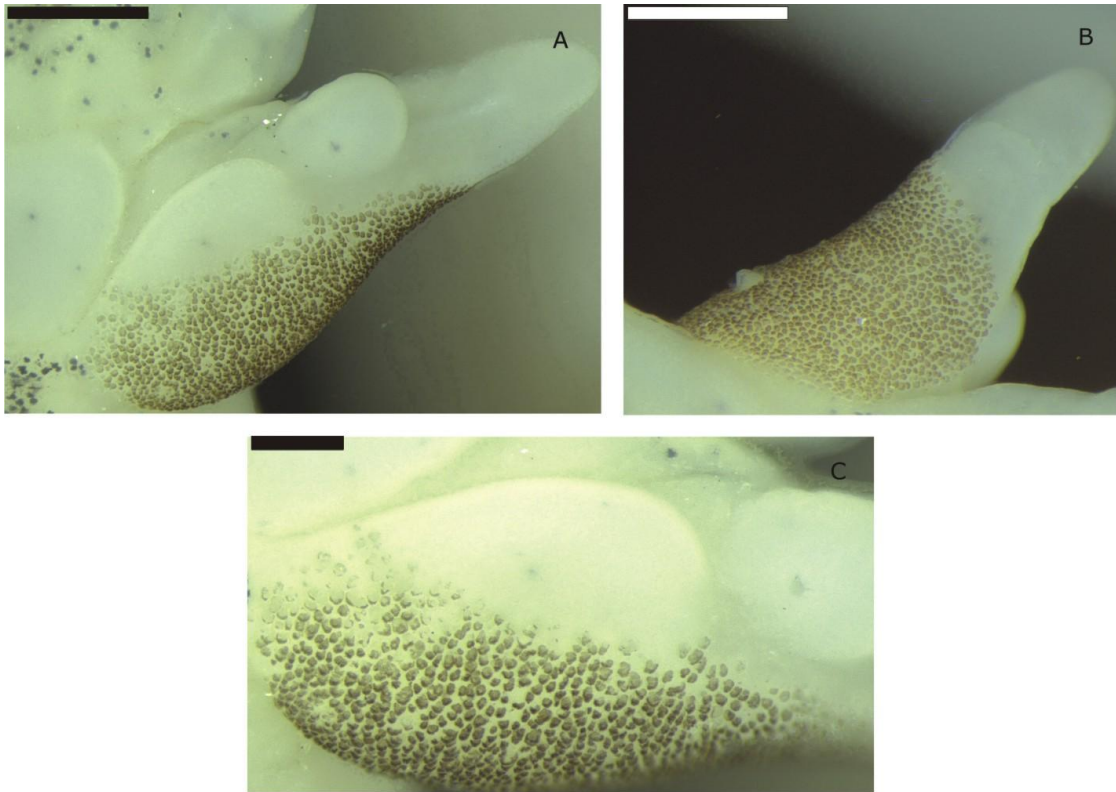


Figura 29. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. serrana*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

***P. mystacalis* (figura 30):** Em vista ventral o calo se estende da base da região medial carpal, recobrando por completo o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas a região medial da porção complementar distal do mesmo calo. Não há interrupção no tapete de PEs entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo, mas ele se reduz seguindo a margem distal do calo metacarpal. A partir do início proximal do calo subarticular, o tapete segue medialmente em forma de linha até o final do calo subarticular.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal. O tapete se inicia no carpo em ângulo agudo sobre toda a superfície visível do carpo, se estende acompanhando a margem lateral do metacarpo também o cobrindo por completo. A metade proximal da falange proximal também é coberta em sua totalidade de forma que o tapete termina de forma truncada sem a formação de ápice.

**Densidade:** 2166.67-2714.29 PE/mm<sup>2</sup> (média=2388.89 e SD=288.02).

**Variações:** Em vista ventral um indivíduo apresentou o tapete de PEs atingindo apenas pequena parte ou o terço proximal da falange proximal.

Em vista dorsal um indivíduo apresentou apenas o terço proximal da falange proximal inteiramente coberta pelo tapete de PEs que a partir daí, segue em direção medial até atingir a metade proximal da mesma falange.

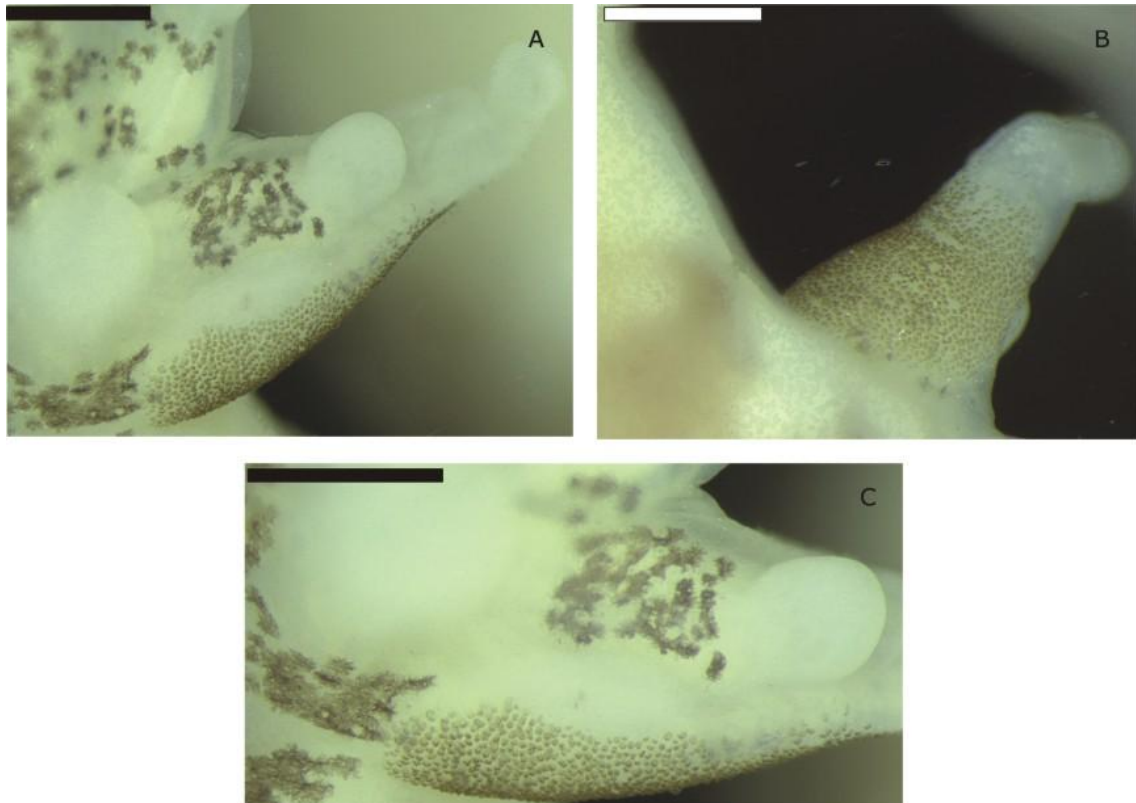


Figura 30. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. mystacalis*. Escala: 0.5mm A, B e C.

#### 4.1.3 Pleurodema

**Visão geral:** ver visão geral de *Physalaemus*.

***P. diplolister* (figura 31):** Em vista ventral o calo se estende da base da região medial carpal, recobrimdo por completo o início do terço proximal do calo metacarpal interno e

a metade da região medial da porção complementar distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo e na base do calo subarticular se torna paralelo ao eixo do dedo ocupando aproximadamente o quarto medial do dedo. O tapete se estende até a porção distal (junto à articulação com a falange distal) da falange proximal. No indivíduo usado para descrição (foto), vemos que um aglomerado de PEs aparece no terço proximal da falange distal após uma grande interrupção.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. A interrupção carpal-metacarpal é visível e o tapete na porção metacarpal se inicia em ângulo reto e se estende em forma oval (ou cone com base metacarpal) até o terço proximal da falange proximal cobrindo todo o metacarpo. Na falange proximal o tapete se estende para o terço medial da mesma, e termina na porção distal da falange proximal próximo a articulação falange proximal-distal.

**Densidade:** 1357.14-1437.5 PE/mm<sup>2</sup> (média=1402.14 e SD=41.0348).

**Variações:** Em vista ventral um indivíduo apresentou a porção carpal do tapete apenas no terço medial do calo metacarpal. No mesmo indivíduo o tapete atinge o terço proximal da falange proximal.

Em vista dorsal um indivíduo não apresentou o terço proximal metacarpal completamente coberto pelo tapete de PEs.

Alguns indivíduos podem apresentar as PEs de coloração preta.



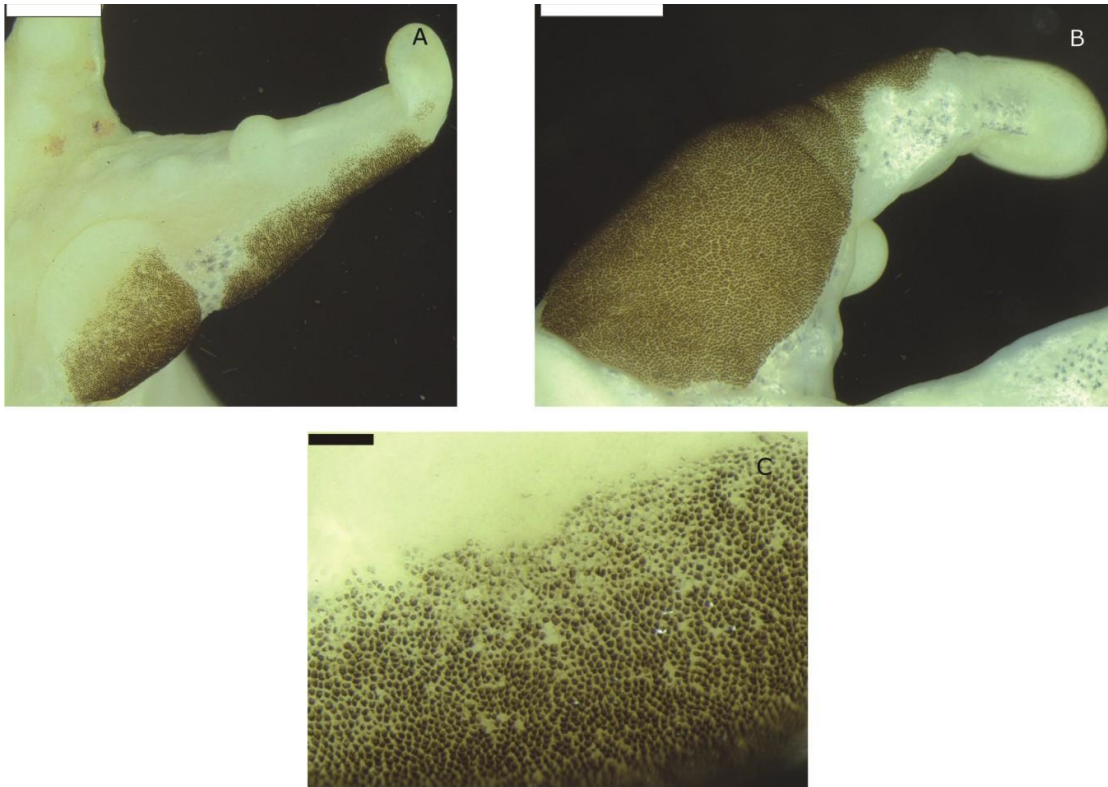


Figura 31. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. diplolister*. Escala: 1mm A e B; 0.2mm C.

***P. alium* (figura 32):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando completamente o terço proximal do calo metacarpal interno e apenas a metade medial da porção distal do mesmo calo. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir da base do calo subarticular, se estende medialmente até a metade da falange proximal formando um desenho tipo elipse espessa no metacarpo e uma linha fina paralela ao eixo da falange na falange proximal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação metacarpo-falange proximal cobrindo o

metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular. A cobertura da falange tem formato de triângulo achatado.

**Densidade:** 1136.36-1481.48 PE/mm<sup>2</sup> (média=1325.95 e SD=175.061).

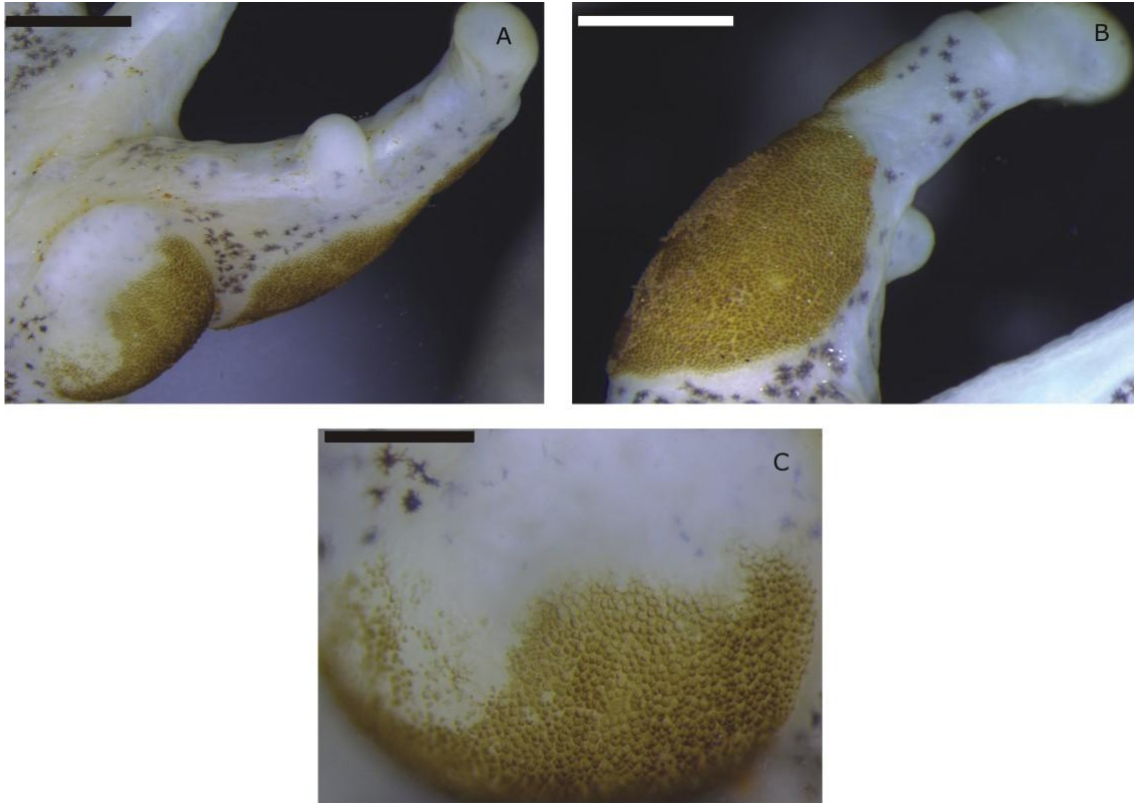


Figura 32. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. alium*. Escala: 1mm A e B; 0.5mm C.

#### 4.1.4 *Paratelmatoebius*

**Visão geral:** o calo se apresenta de forma distinta do restante da pele da mão do animal com PEs, conspícuas de coloração marrom escura (esbranquiçada em *P. lutzii*), visivelmente separadas umas das outras. As PEs apresentam forma arredondada em menor e maior aumento, separadas por porções de pele clara, nunca se fusionando ou se encontrando umas com as outras. São consideravelmente maiores do que a dos Leiuperinae (em altura). Cada projeção epidérmica aparenta ser formada de subunidades menores (numerosas), arredondadas, de tonalidade marrom escura e separadas entre si



por áreas marrom claras. A disposição das subunidades apresenta um padrão geral com uma subunidade central e outras a circundando em vista dorsal para a maioria das espécies. Apenas em *P. gaigeae* a disposição é distinta, com um padrão de formação de fileiras em paralelo em vista dorsal. Em vista lateral, PEs principalmente em forma de cones altos. O ápice do cone possui uma subunidade maior em forma espinho curvo em direção proximal em *P. gaigeae*, *P. cardosoi* e *P. langonei* e em espinho retilíneo em *P. poecilogaster*. As subunidades adjacentes menores são arredondadas em *P. cardosoi* e *P. langonei* e em forma de espinho em *P. gaigeae* e *P. poecilogaster*. As PEs são direcionadas medial e caudalmente em todas as espécies.

***P. gaigeae* (figura 33):** Em vista ventral o calo se estende da porção média da região medial carpal, recobrando metade ou terço medial da metade distal do calo metacarpal interno. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir do calo subarticular, se estende medialmente até o fim da falange distal formando um desenho tipo elipse espessa no metacarpo e uma linha paralela ao eixo da falange na falange distal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação metacarpo-falange distal cobrindo o metacarpo e falanges quase por completo.

**Densidade:** 461.538-590.909 PE/mm<sup>2</sup> (média=539.222 e SD=68.4911).

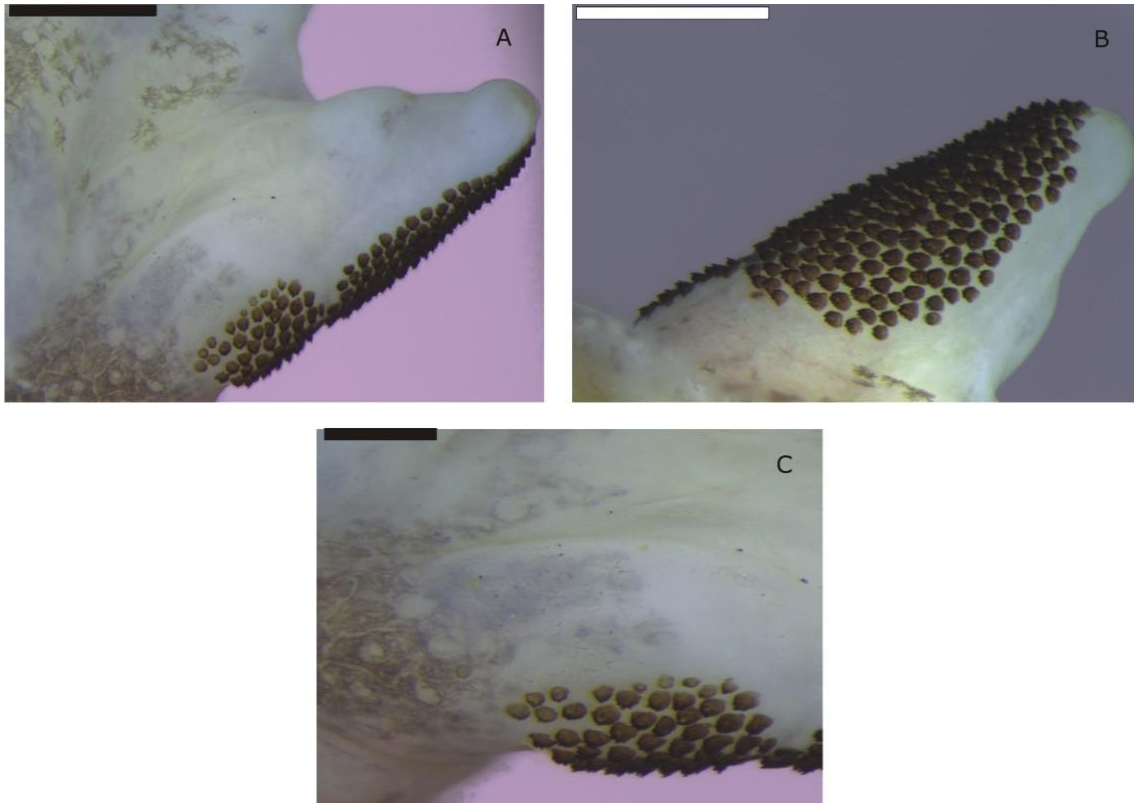
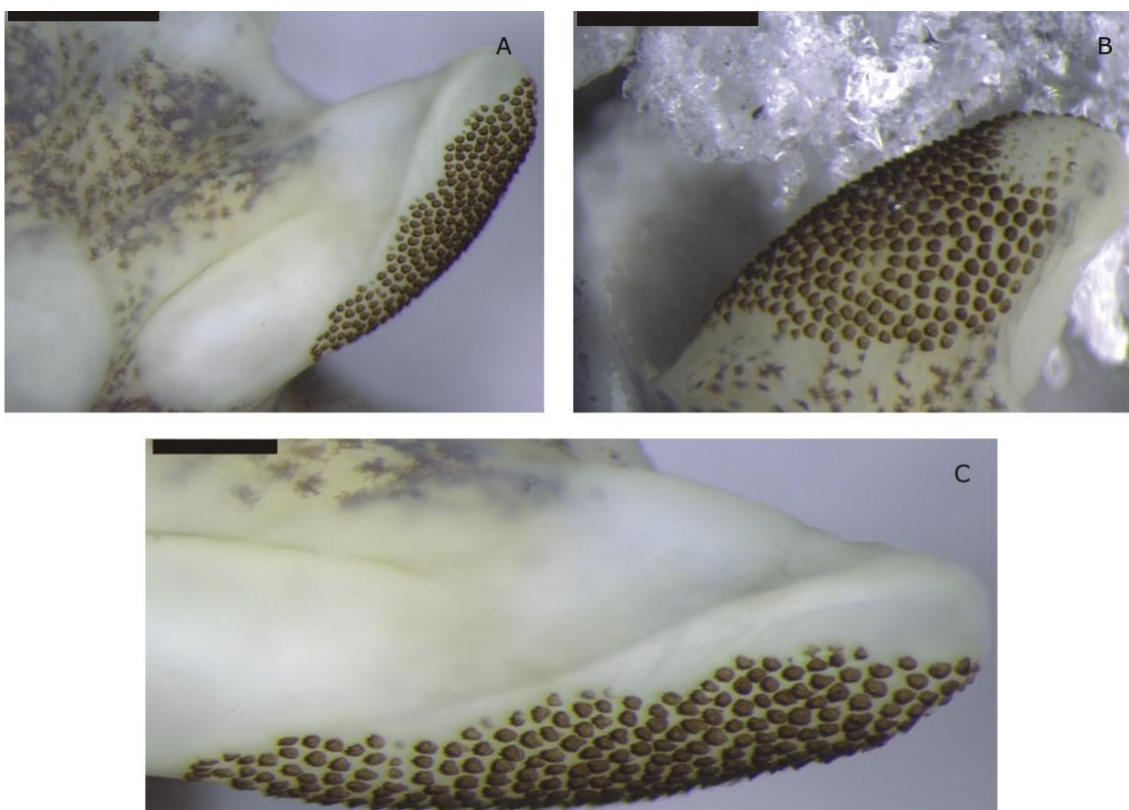


Figura 33. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. gaigae*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

***P. cardosoi* (figura 34):** Em vista ventral o calo se estende da porção média da região medial carpal, não recobrando a face ventral do calo metacarpal interno. Uma dobra epitelial que se estende do carpo à falange distal comporta o tapete de PEs que segue sua forma. A dobra se inicia na margem medial do calo metacarpal interno e se estende lateralmente até o fim da falange distal. A partir do calo subarticular o tapete de PEs diminui ligeiramente sua área de cobertura. Não há interrupção no tapete de PEs entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete continua na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação metacarpo-falange distal cobrindo o metacarpo e falanges quase por completo.

**Densidade:** 680-909.091 PE/mm<sup>2</sup> (média=823.815 e SD=125.263).



**Figura 34.** Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. cardosoi*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

***P. poecilogaster* (figura 35):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando a metade medial ao longo de todo calo metacarpal interno. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir do calo subarticular, se estende medialmente até o fim da falange distal formando um desenho tipo elipse espessa no metacarpo e uma linha paralela ao eixo da falange na falange distal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma

semicircular até a articulação metacarpo-falange distal cobrindo o metacarpo e falanges quase por completo.

**Densidade:** 410.256-478.261 PE/mm<sup>2</sup> (média=453.035 e SD=37.2456).

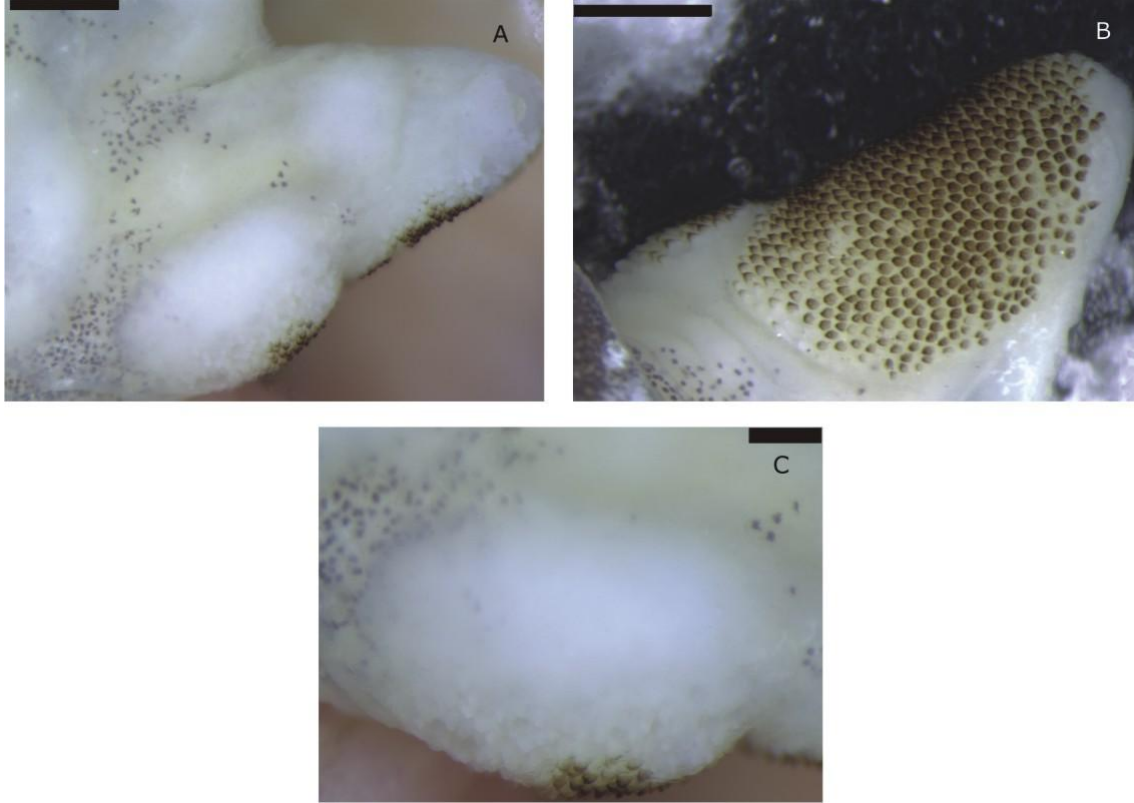


Figura 35. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. poecilogaster*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

***P. langonei* (figura 36):** Em vista ventral o calo se estende da porção média da região medial carpal, não recobrando a face ventral do calo metacarpal interno. Uma dobra epitelial que se estende do carpo à falange distal comporta o tapete de PEs que segue sua forma. A dobra se inicia na margem medial do calo metacarpal interno e se estende lateralmente até o fim da falange distal. A partir do calo subarticular o tapete de PEs diminui ligeiramente sua área de cobertura. Não há interrupção no tapete de PEs entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete continua na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação metacarpo-falange distal cobrindo o metacarpo e falanges quase por completo.

**Densidade:** 394.737-500 PE/mm<sup>2</sup> (média=435.501 e SD=56.5033) PEs por mm<sup>2</sup>.

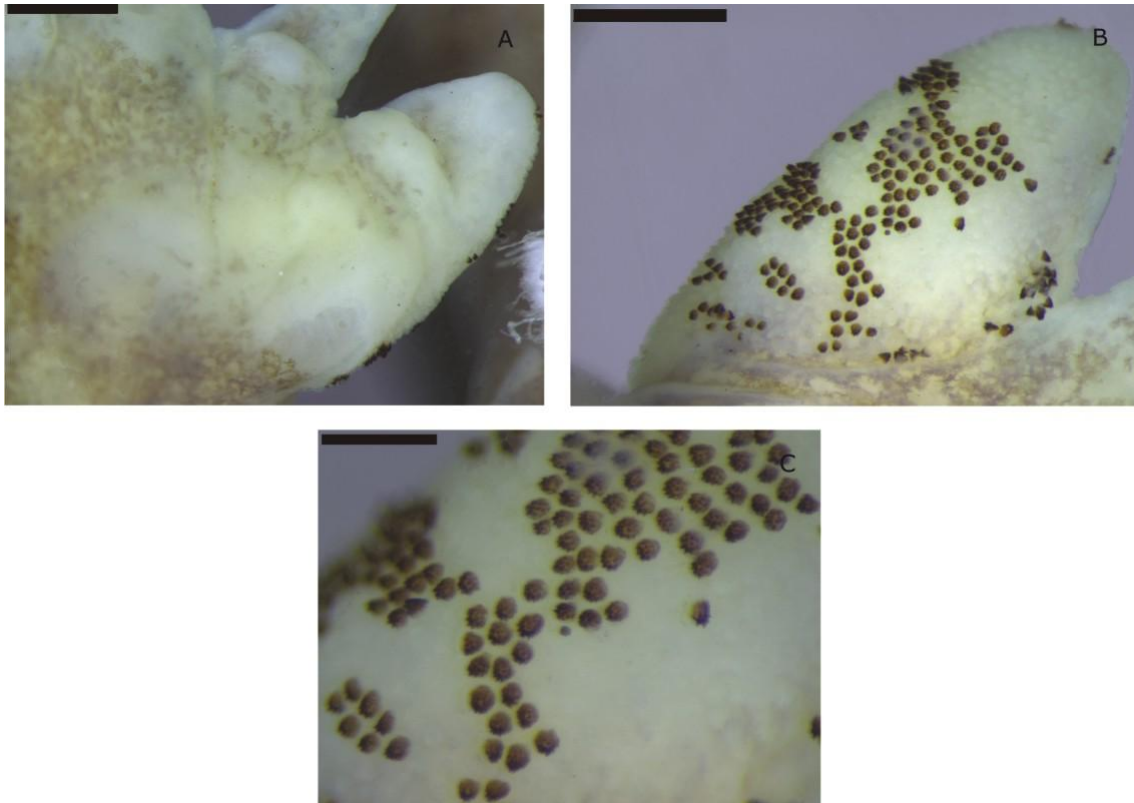


Figura 36. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. langonei*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

***P. lutzii* (figura 37):** Em vista ventral o calo se estende da porção proximal da região medial carpal, recobrando a metade ou terço medial ao longo de todo calo metacarpal interno. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo e se estende em forma de linha

paralela ao eixo do dedo, ocupando o quinto medial do mesmo até a articulação falange proximal-falange distal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma semicircular até a articulação metacarpo-falange distal cobrindo o metacarpo e falanges quase por completo.

**Densidade:** 433.333-700 PE/mm<sup>2</sup> (média=536.508 e SD=143.201).

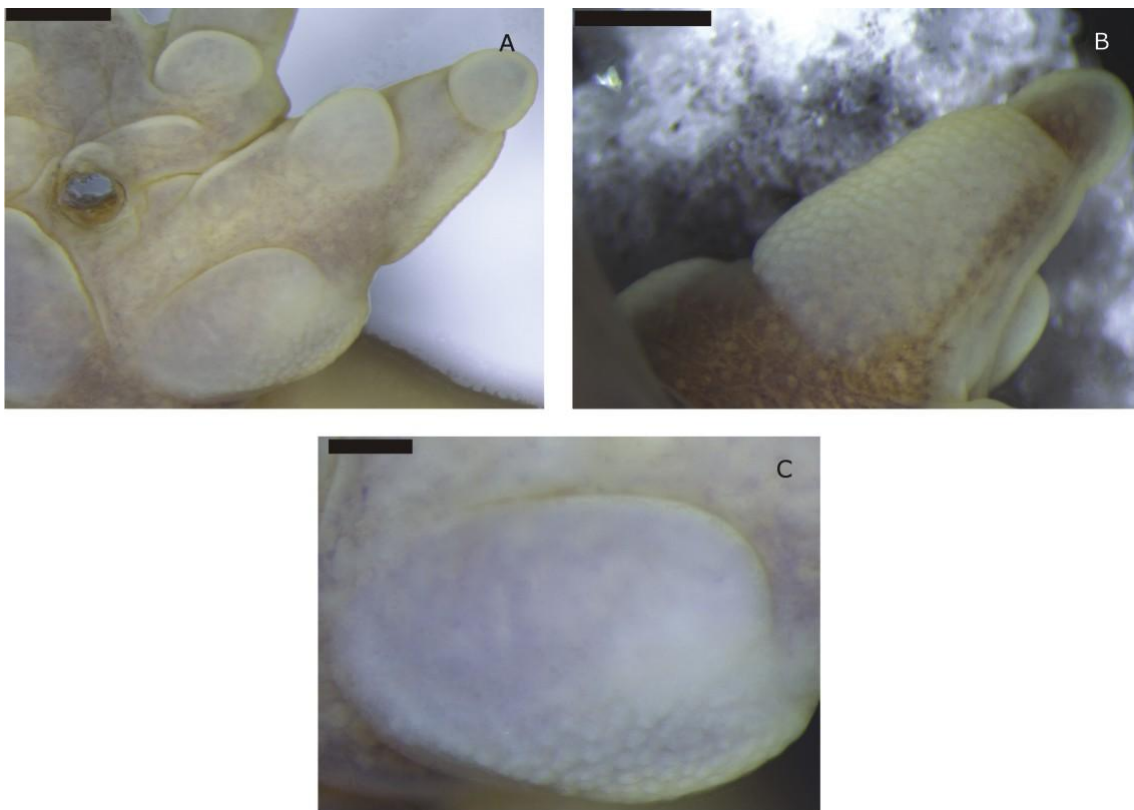


Figura 37. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *P. lutzii*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

#### 4.1.4 *Crossodactylodes*

O calo se apresenta de forma distinta do restante da pele da mão do animal com PEs, conspícuas de coloração marrom escura, visivelmente separadas ou não, umas das outras. As PEs apresentam forma de espinho em menor e maior aumento, separadas por porções de pele clara quando não fusionadas, mas frequentemente se fusionando umas com as outras. São consideravelmente maiores do que a dos *Leiuperinae*, *Paratelmatobius* e *Scytrophrys* (tanto em altura quanto em largura). Cada projeção epidérmica aparenta ser única e compacta sem divisão em subunidades menores. As PEs são direcionadas proximalmente com uma ligeira curvatura do espinho. As PEs podem ser contadas sem auxílio de estimativas e tem número de 5–16 em *C. itambe* (figura 39), 2–14 em *C. izecksohni* (figura 40) e 1–8 em *C. bokermanni* (figura 38).

Em vista ventral os espinhos se estende da porção média da região medial metacarpal, não recobrando a face ventral do calo metacarpal interno. Os espinhos seguem medialmente sem interrupção até a falange proximal. Não há interrupção nos espinhos entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo.

Em vista dorsal os espinhos são visíveis no metacarpo e falange proximal. Os espinhos se estendem em forma semicircular do metacarpo até falange proximal cobrindo-os quase por completo.

Todas as três espécies apresentaram padrões semelhantes, possibilitando uma descrição geral.

**Observação:** um padrão de disposição de 4 dos espinhos é encontrado independente do número desses. Um arranjo em “T” com três espinhos metacarpais e um na falange proximal.

**Variações:** O número de espinhos pode variar entre as duas mãos de um mesmo espécime.



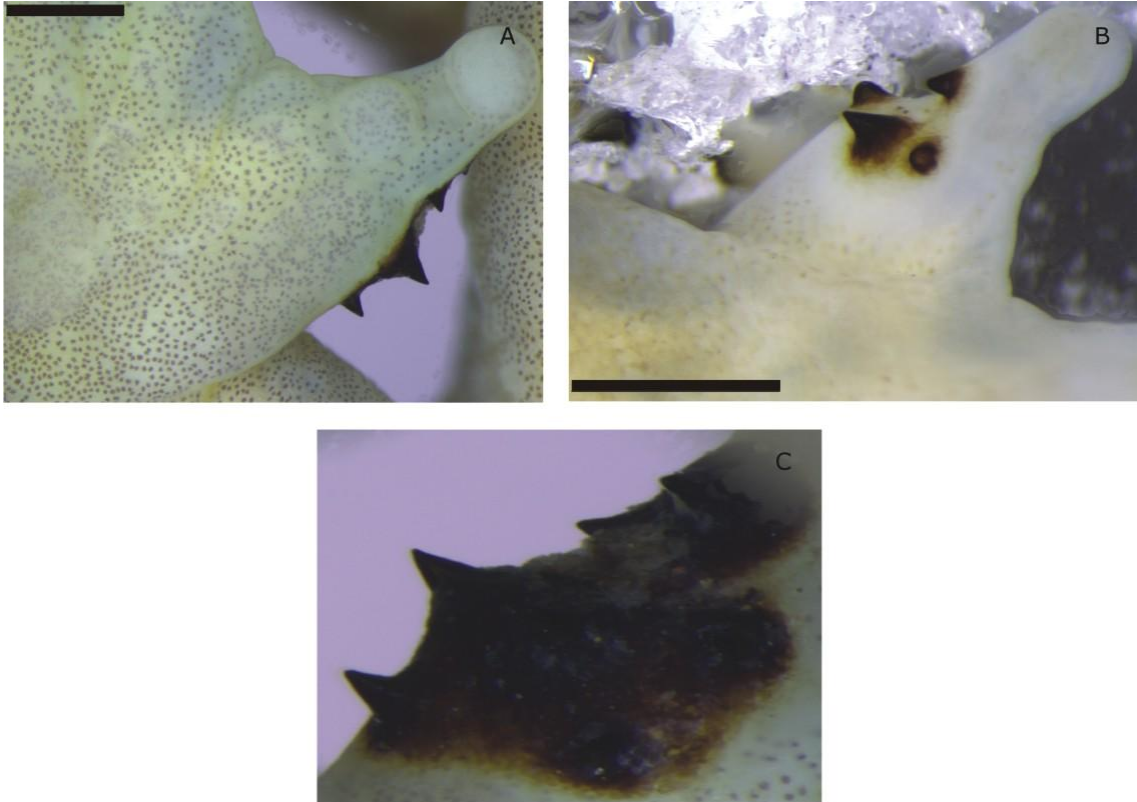


Figura 38. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *C. bokermanni*. Escala: 0.5mm A e B.



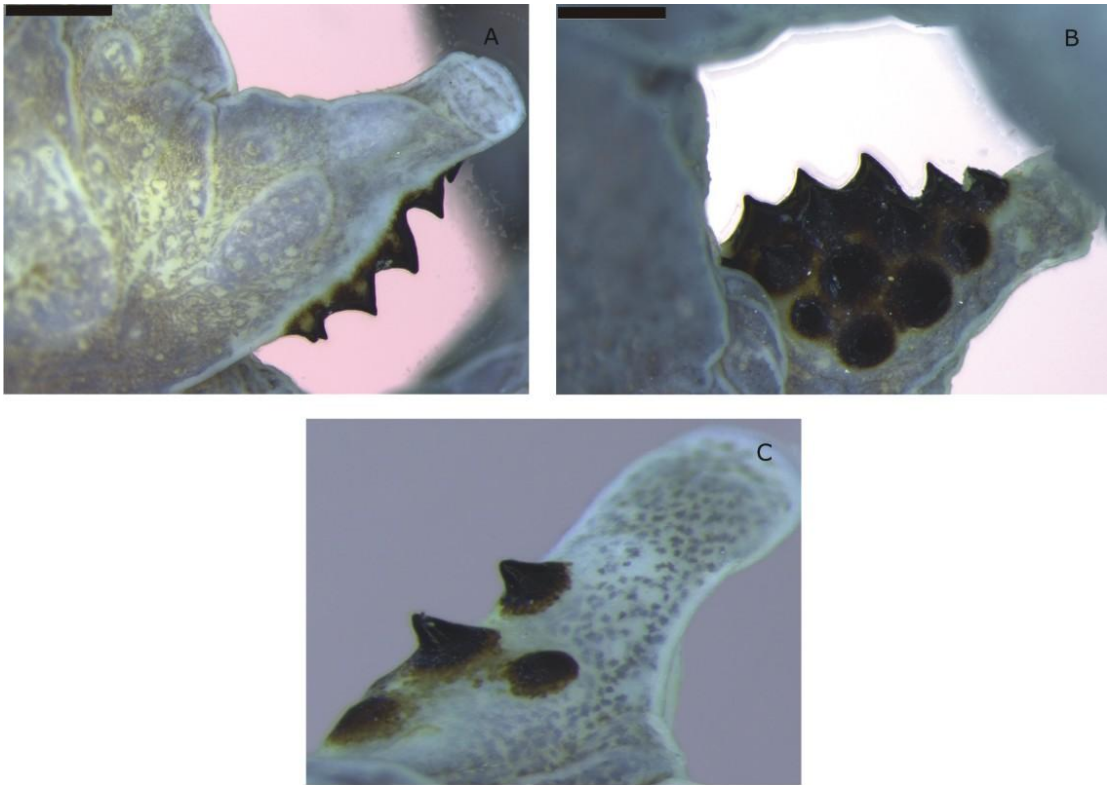


Figura 39. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *C. itambe*. Escala: 0.5mm A e B.

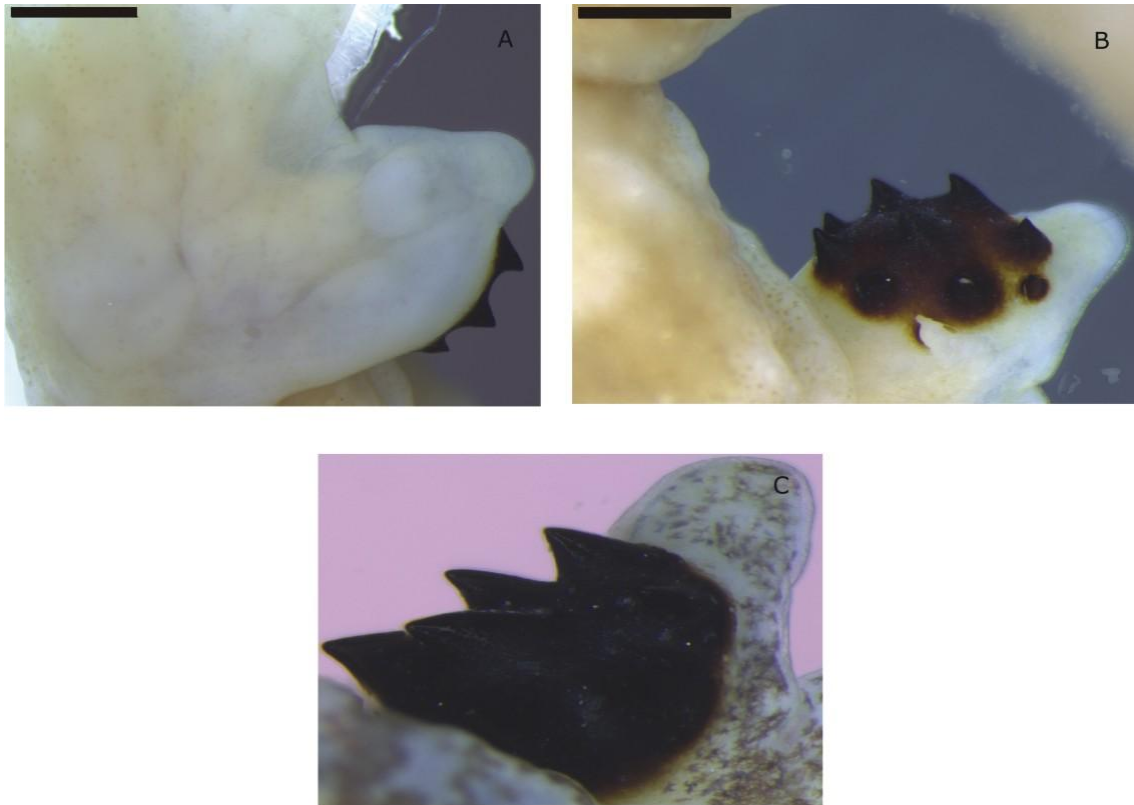


Figura 40. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *C. izecksohni*. Escala: 0.5mm A e B.

#### 4.1.5 *Rupirana*

***R. cardosoi* (figura 41):** o calo se apresenta de forma distinta do restante da pele da mão do animal com PEs, conspícuas de coloração marrom escura a preta, visivelmente separadas umas das outras. As PEs apresentam forma arredondada em menor aumento e poliédricas em maior aumento, separadas por porções de pele clara, nunca se fusionando ou se encontrando umas com as outras. São consideravelmente maiores do que a dos *Leiuperinae* e *Scytrophrys* (mais semelhantes às de *Paratelmatoebius*). Cada projeção epidérmica aparenta ser formada de subunidades menores (numerosas), arredondadas, de tonalidade marrom escura e separadas entre si por áreas marrom claras. A disposição das subunidades apresenta um padrão de formação com uma subunidade central e as demais ao redor em vista dorsal. Em vista lateral as PEs tem

forma de cones. O ápice do cone possui um espinho curvo ou gancho (subunidade) maior central e até dois pares espinhos menores adjacentes. O gancho é curvado em direção proximal. As PEs são direcionadas medial e caudalmente.

**Densidade:** 409.091-444.444 PE/mm<sup>2</sup> (média=427.369 e SD=17.7074).

Em vista ventral o calo se estende da porção média da região medial carpal, recobrimdo o terço medial da metade distal do calo metacarpal interno. Uma grande interrupção completa é formada a partir porção distal do calo metacarpal interno no tapete de PEs, acompanhando a forma da margem distal do calo. O tapete de PEs se reinicia em forma de ângulo agudo se estendendo lateralmente, e, a partir do calo subarticular, se estende medialmente até o fim da falange proximal formando um desenho tipo elipse espessa no metacarpo e uma linha paralela ao eixo da falange na falange proximal.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo e metacarpo. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete se inicia na região proximal do metacarpo e se estende em forma de elipse até o fim da falange proximal, cobrindo o metacarpo quase por completo e diminuindo a região de cobertura a partir do calo subarticular.

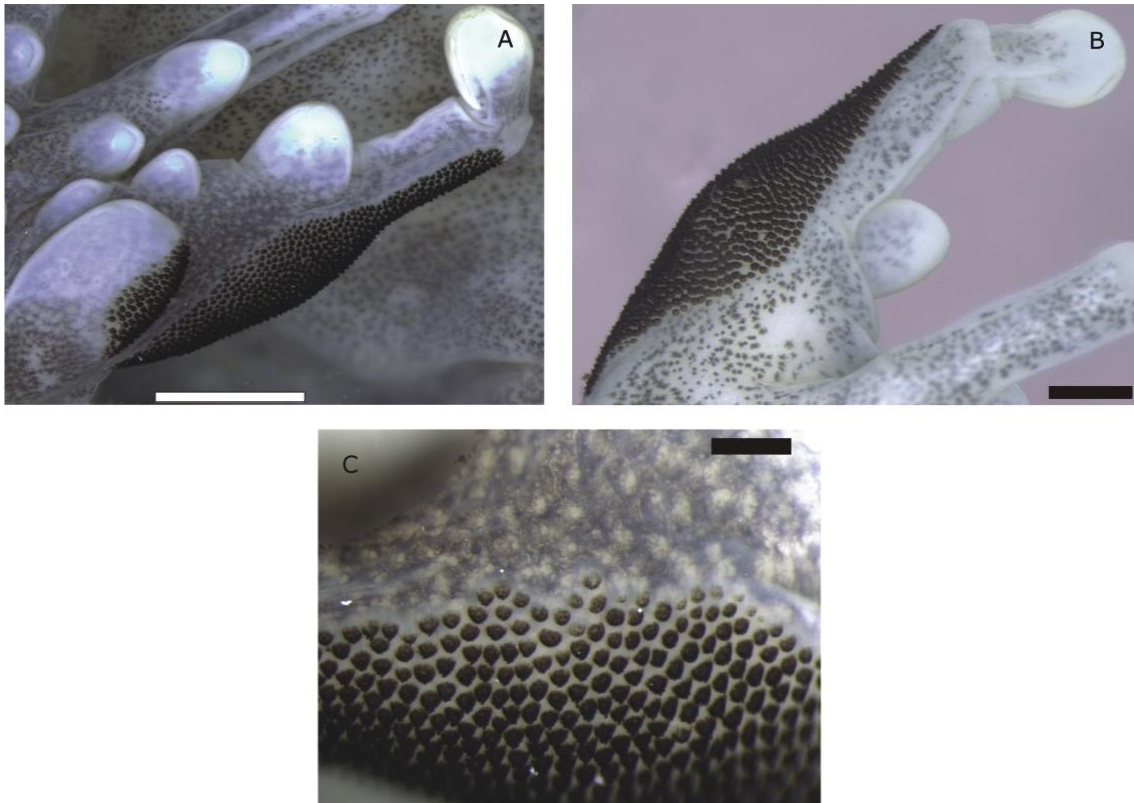


Figura 41. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *R. cardosoi*. Escala: 1mm A; 0.5mm B; 0.2mm C.

#### 4.1.6 *Scytrophrys*

**Visão geral:** ver visão geral de *Physalaemus*.

***S. arijui* (figura 42):** Em vista ventral o tapete de PEs se estende da porção proximal da região medial carpal, não recobrimdo a face ventral do calo metacarpal interno até o fim da falange proximal. A partir do calo subarticular o tapete de PEs diminui ligeiramente sua área de cobertura. Não há interrupção no tapete de PEs entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete continua na região proximal do metacarpo e se estende

em forma semicircular até a articulação falange proximal-falange distal cobrindo o metacarpo e falange quase por completo.

**Densidade:** 1555.56-1818.18 PE/mm<sup>2</sup> (média=1707.91 e SD=136.278).

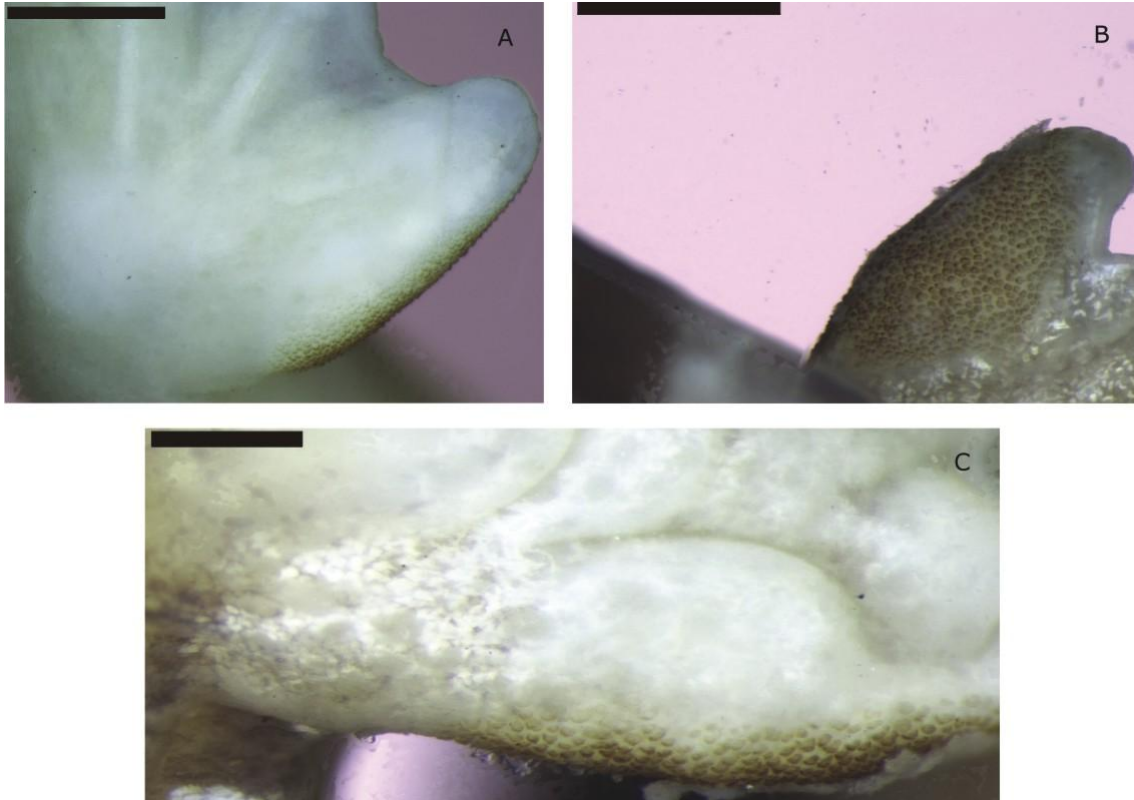


Figura 42. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *S. ariji*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

***S. sawayae* (figura 43):** Em vista ventral o tapete de PEs se estende da porção proximal da região medial carpal, não recobrando a face ventral do calo metacarpal interno, até o fim da falange proximal. A partir do calo subarticular o tapete de PEs diminui ligeiramente sua área de cobertura. Não há interrupção no tapete de PEs entre o fim do calo metacarpal e a porção distal do metacarpo.

Em vista dorsal o tapete de PEs é visível no carpo, metacarpo e falange proximal. A porção carpal é vista apenas como uma linha fina cobrindo a margem medial de toda a região visível do carpo. O tapete continua na região proximal do metacarpo e se estende

em forma semicircular até a articulação falange proximal-falange distal cobrindo o metacarpo e falange quase por completo.

**Densidade:** 1833.33-2166.67 PE/mm<sup>2</sup> (média=2000 e SD=166.667).

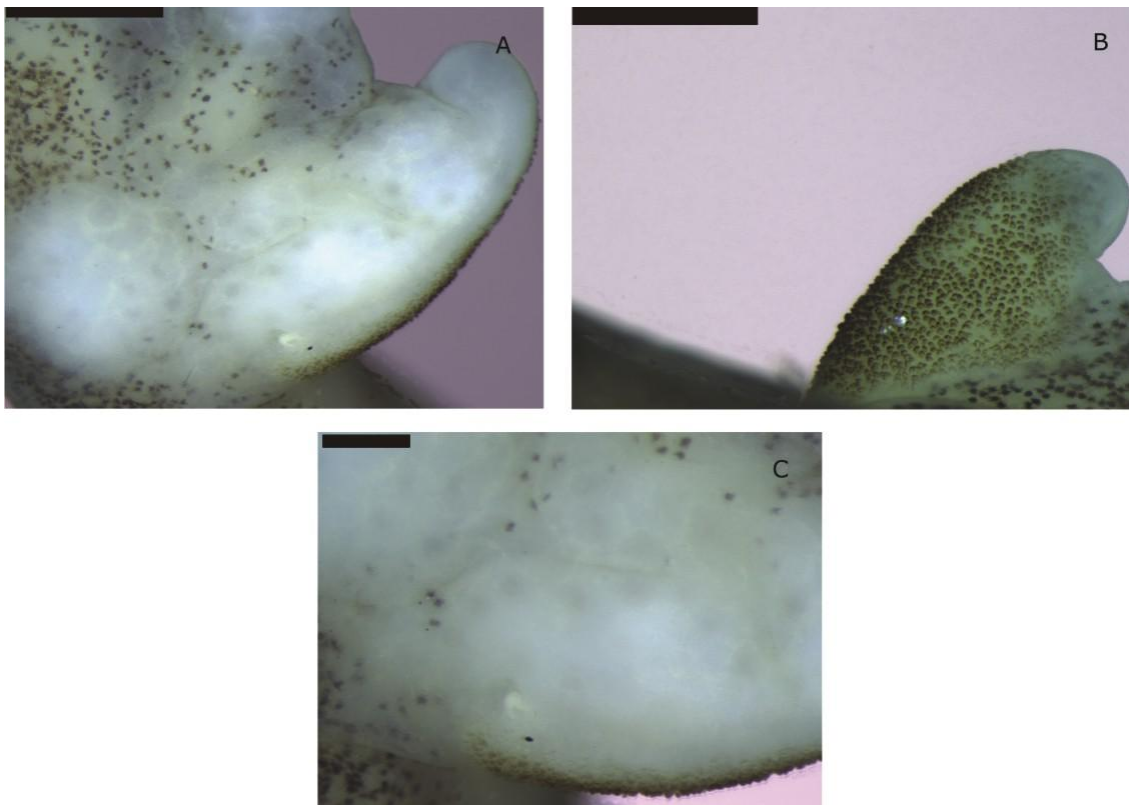


Figura 43. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *S. sawayae*. Escala: 0.5mm A e B; 0.2mm C.

#### 4.1.7 *Leptodacylus*

##### *L. petersii* (figura 44):

O calo se apresenta de forma distinta do restante da pele da mão do animal com a presença de dois espinhos de coloração preta, separados um do outro. São consideravelmente maiores do que a dos Leiuperinae, *Paratelmatoebius* e *Scytrophrys*. Cada espinho é compacto, de superfície regular e lisa.

Em vista ventral ambos espinhos são visíveis. Um dos espinhos se encontra na porção distal (término) da margem medial do calo metacarpal. O outro, também na margem



medial do dedo, se inicia na região proximal do calo subarticular e termina na porção distal do mesmo calo. Ambos os espinhos se encontram, portanto, no metacarpo e são voltados em direção distal sem curvatura aparente.

Em vista dorsal apenas o espinho distal pode ser observado.

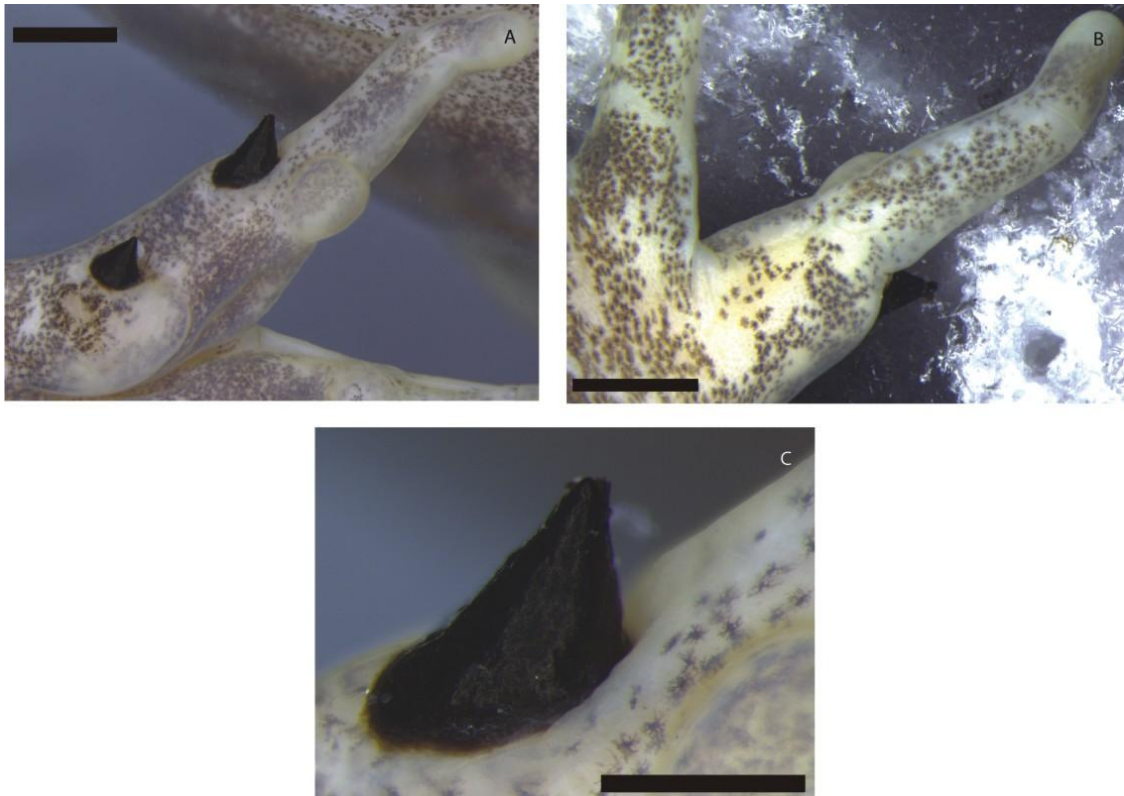


Figura 44. Vista ventral (A), dorsal (B) e detalhe (C) da calosidade de *L. petersii*. Escala: 1mm A e B; 0.5mm C.

#### 4.1.8 *Vitreorana*

*V. uranoscopa* (figura 45): o calo se apresenta de forma distinta do restante da pele da mão do animal como um aglomerado intumescido e esbranquiçado em relação as demais partes da pele. O aglomerado é composto de pequenos círculos brancos com a parte central mais escura (parecido com uma auréola). Separações entre essas unidades são visíveis apenas nas margens da calosidade, onde elas são menos abundantes. A vista

lateral é lisa com poucas dobras suaves. Aparentemente, cada círculo branco é uma unidade glandular.

Em vista ventral o aglomerado se estende da porção proximal do metacarpo em forma de bloco, sem cobrir e ligeiramente distante do calo metacarpal, até a articulação metacarpo-falange proximal, aumentando sua área de cobertura lateralmente com o fim do calo metacarpal. A forma geral da calosidade lembra um z.

Em vista dorsal o terço proximal do aglomerado é estreita e se limita a uma cobertura medial. A partir daí, se estende lateralmente em ângulo reto cobrindo quase toda porção distal do metacarpo.

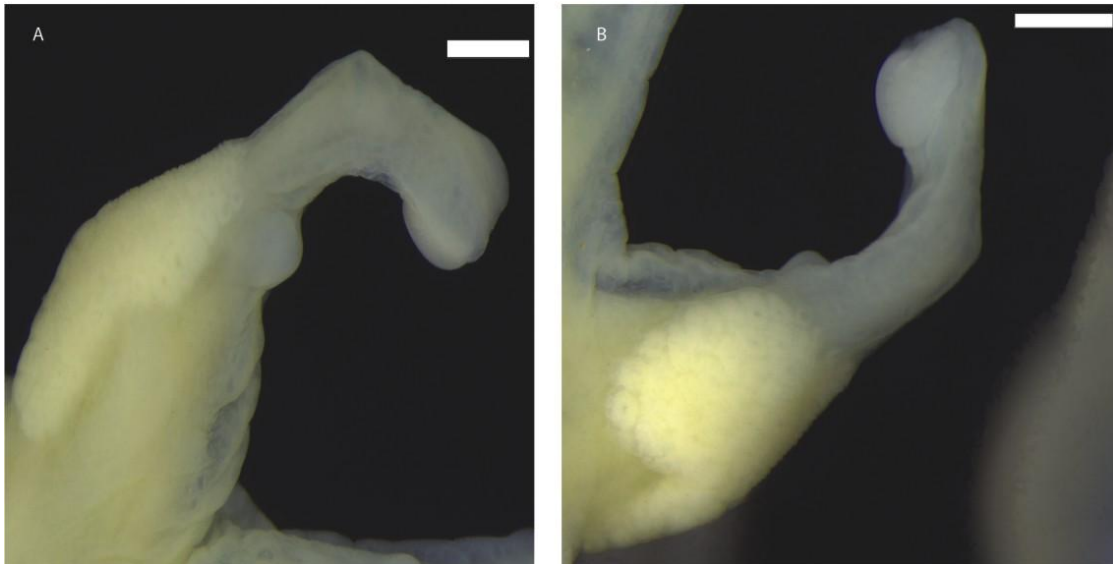


Figura 45. Vista ventral (A) e dorsal (B) da calosidade *V. uranoscopa*. Escala: 0.5mm A e B.



## 4.2 Descrição MEV

### 4.2.1 *Physalaemus*

#### 4.2.1.1 Clado *P. cuvieri*

##### Grupo *P. cuvieri*

*P. cuvieri* (figura 46): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical ligeiramente côncava (depressão), em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 1.01–7.6 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ). A fusão entre PEs é rara, assim como agrupamentos e sua forma impede a visualização dos poros glandulares e de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 18.88–25.81  $\mu\text{m}$  e ápice formado por variável número de células (2–7) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de aglomerados que projetam pequenas porções cônicas e circulares de comprimento variando entre 0.19–0.42  $\mu\text{m}$ . A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE.

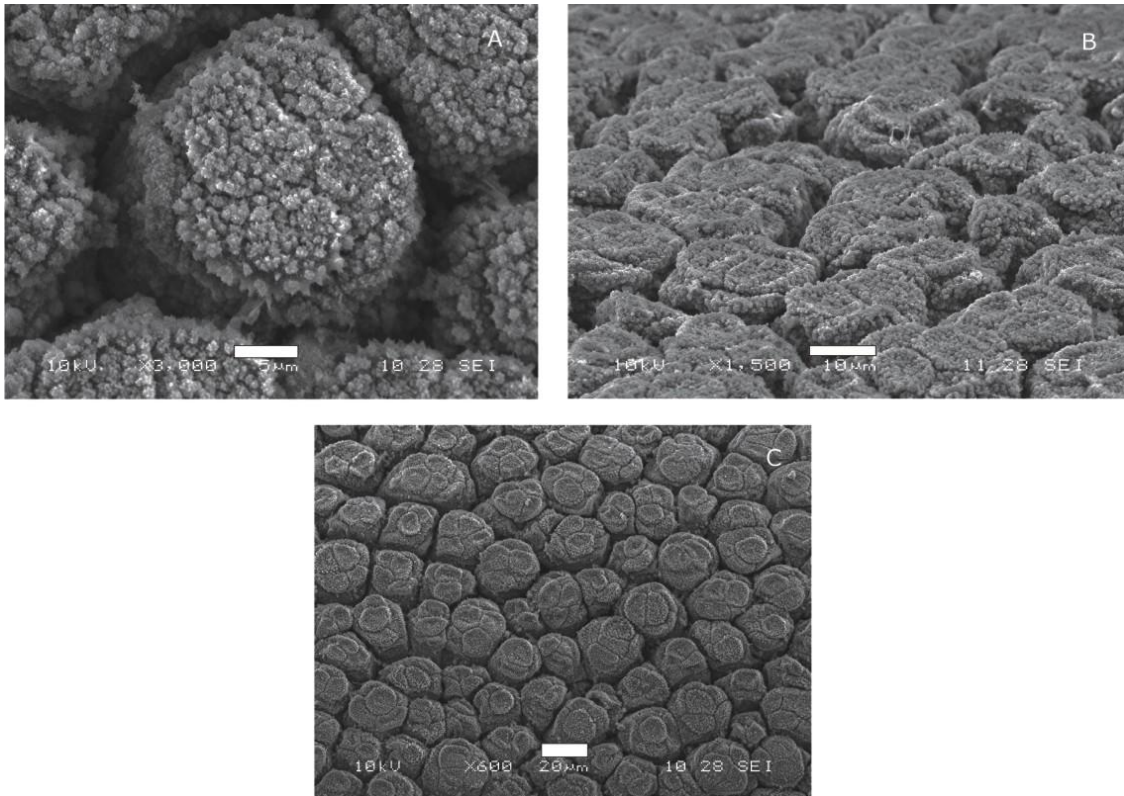


Figura 46. Ultraestrutura da calosidade de *P. cuvieri*. PE individualizada (A). Vista lateral da PE (B). Visão panorâmica dorsal da superfície (C). Escala: 5µm A; 10µm B; 20µm C.

***P. kroyeri* (figura 47):** Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 1.54–7.32 µm. A fusão entre PEs é rara, os agrupamentos frequentes e sua forma impede a visualização dos poros glandulares e parte de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 11.57–17.18 µm e ápice formado por variável número de células (2–6) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de aglomerados alongados e circulares de superfície mais compacta e comprimento variando entre 0.09–0.31 µm. Por cima e entre esses aglomerados, há um material particulado compacto composto por feixes de bastões. A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE. O ápice possui apenas uma fileira de células.

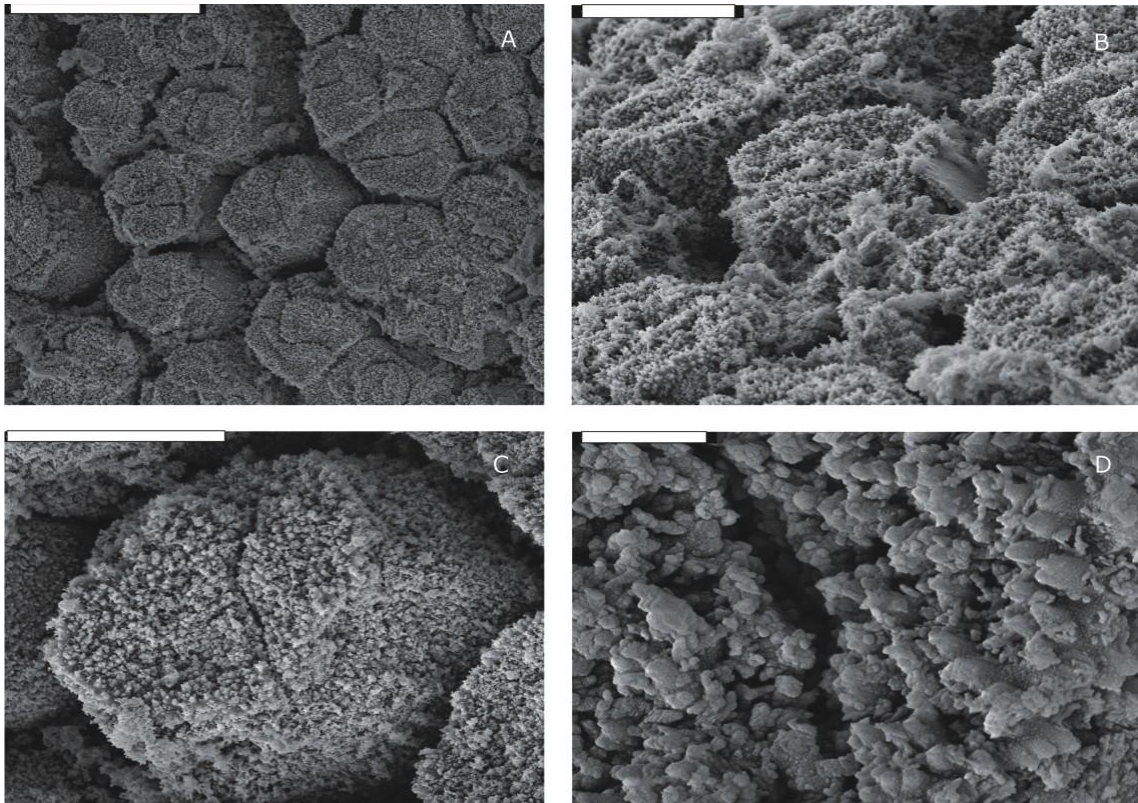


Figura 47. Ultraestrutura da calosidade de *P. kroyeri*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 30 $\mu$ m A; 10 $\mu$ m B e C; 1 $\mu$ m D.

***P. albonotatus* (figura 48):** Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (trapézios) com base mais larga, em forma de lajotas disformes e superfície apical côncava (depressão) mais estreita, de mesma forma, porém mais rugosas. Cada PE tem maior eixo variando entre 19.15–28.29  $\mu$ m, é separada por espaços entre 5.67–6.68  $\mu$ m e é formada por variável número de células de superfície (2–6) altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara, mas o agrupamento frequente e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares, mas não da vista lateral. Em detalhe, as rugosidades são formadas de aglomerados que se dispõem em fileiras de cristas e que projetam pequenas porções circulares de comprimento variando entre 0.27–0.47  $\mu$ m. Entre as fileiras de cristas há um material granuloso fino. A rugosidade da superfície lateral da PE apresenta o mesmo

aspecto de material granuloso fino, em conjunto com algumas projeções circulares maiores.

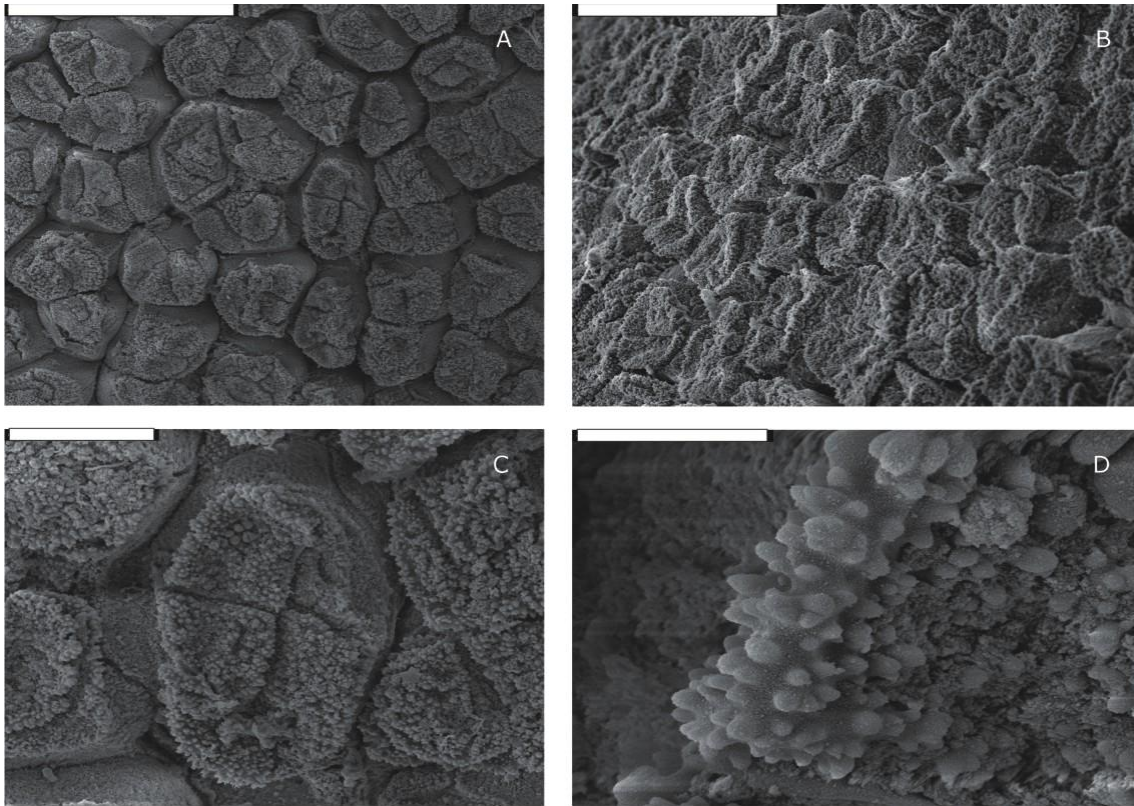


Figura 48. Ultraestrutura da calosidade de *P. albonotatus*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu$ m A; 30 $\mu$ m B; 10 $\mu$ m C; 2 $\mu$ m D.

***P. albifrons* (figura 49):** Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros) de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 2.54–7.04  $\mu$ m. A fusão entre PEs é rara, assim como agrupamentos e sua forma impede a visualização dos poros glandulares e de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 30.54–46.68  $\mu$ m e ápice formado por variável número de células (3–5) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, separadas frequentemente por feixes (cordões) lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de aglomerados que projetam pequenas porções circulares de comprimento variando entre 0.31–0.37  $\mu$ m. A rugosidade da superfície



apical é distinta daquela presente nas laterais da PE, que apresentam projeções circulares mais regulares, uniformes em distribuição e aparentemente achatadas.

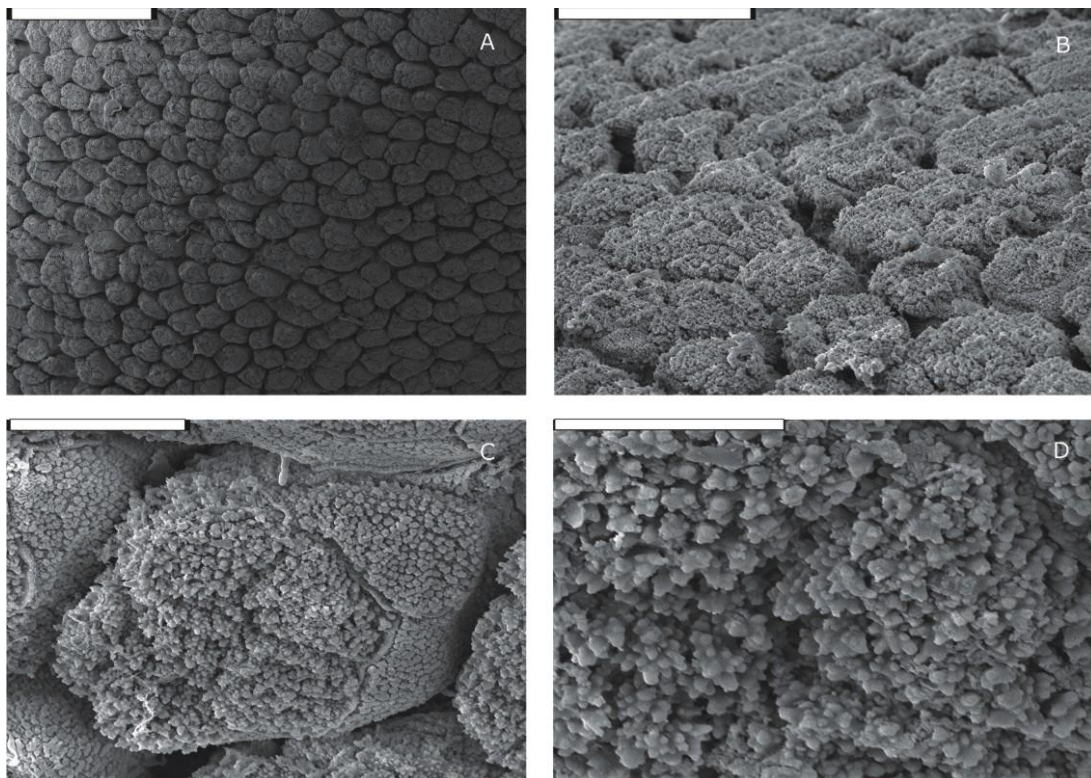


Figura 49. Ultraestrutura da calosidade de *P. albifrons*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu$ m A; 30 $\mu$ m B; 10 $\mu$ m C; 5 $\mu$ m D.

***P. cicada* (sem grupo [figura 50]):** Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical ligeiramente côncava (depressão), em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 1.91–6.56  $\mu$ m. A fusão entre PEs é rara, assim como agrupamentos e sua forma impede a visualização dos poros glandulares e de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 13.6–20.15  $\mu$ m e ápice formado por variável número de células (2–4) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de aglomerados alongados e circulares de superfície mais compacto e comprimento variando entre 0.26–0.63  $\mu$ m. Por cima e entre esses aglomerados, há um material particulado compacto composto por feixes de bastões de

comprimento variando entre 0.13–0.23  $\mu\text{m}$ . A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE.

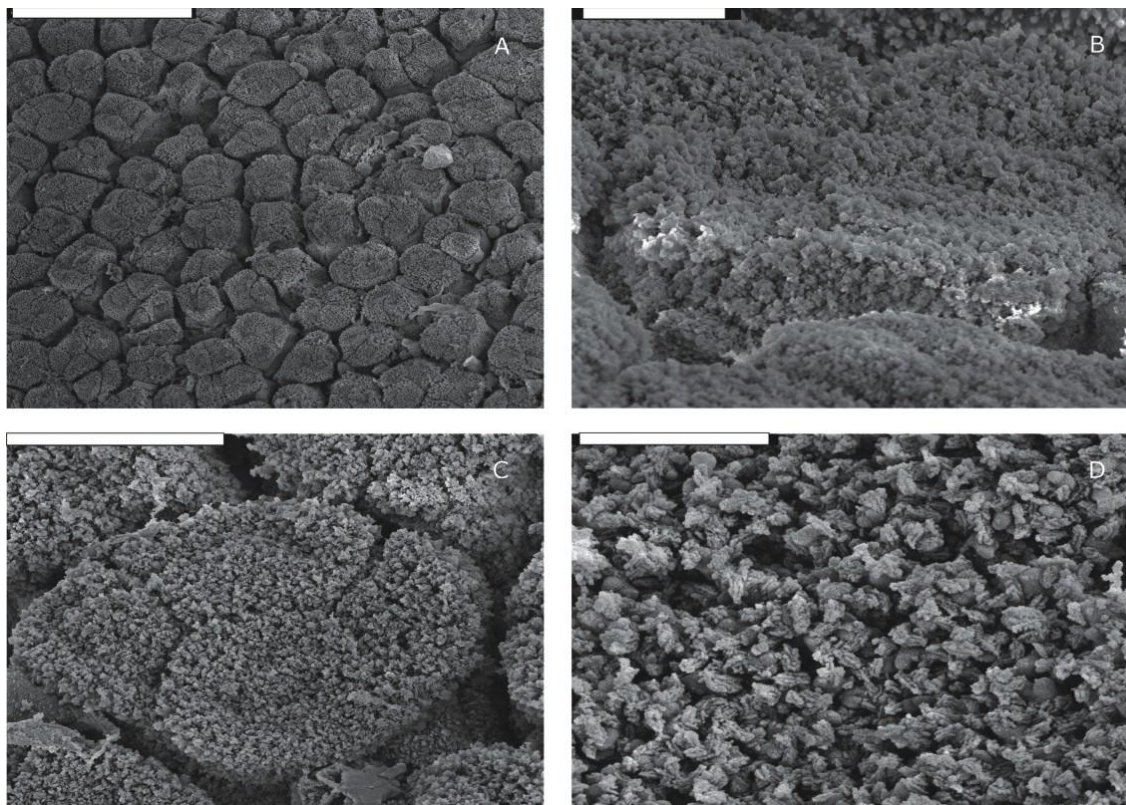


Figura 50. Ultraestrutura da calosidade de *P. cicada*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 5 $\mu\text{m}$  B; 10 $\mu\text{m}$  C; 2 $\mu\text{m}$  D.

### Grupo *P. gracilis*

*P. evangelistai* (figura 51): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 1.38–6.79  $\mu\text{m}$ . A fusão entre PEs é rara, assim como agrupamentos e sua forma impede a visualização dos poros glandulares e parte de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 17.57–22.1  $\mu\text{m}$  e ápice formado por variável número de células (2–4) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de aglomerados alongados e circulares de superfície mais compacta e



comprimento variando entre 0.26–0.63  $\mu\text{m}$ . Por cima e entre esses aglomerados, há um material particulado compacto composto por feixes de bastões de comprimento variando entre 0.13–0.23  $\mu\text{m}$ . A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE. O ápice possui apenas uma fileira de células.

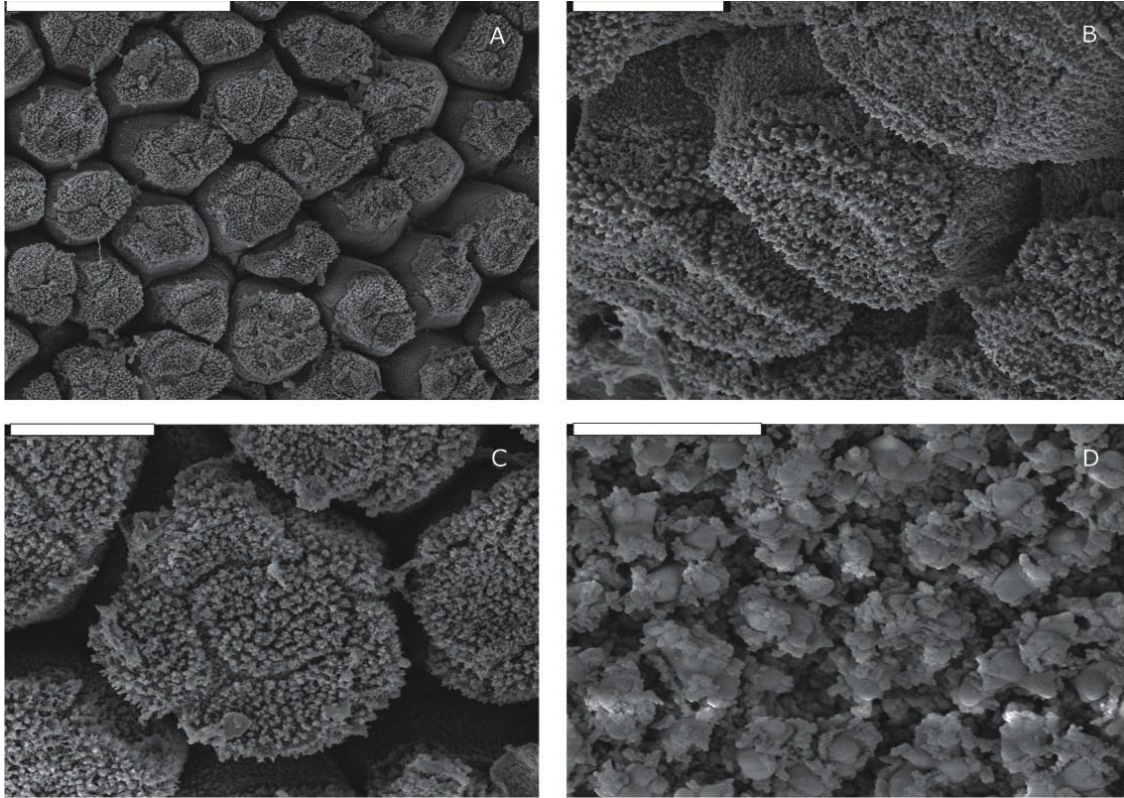


Figura 51. Ultraestrutura da calosidade de *P. evangelistai*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 10 $\mu\text{m}$  B e C; 2 $\mu\text{m}$  D.

***P. lisei* (figura 52):** Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, de forma elíptica a retangular e superfície apical convexa (arredondada) mais estreita (forma quase um cone), que se expande geralmente perpendicularmente ao maior eixo da base, porém mais rugosas e com projeções. Cada expansão da PE tem maior eixo variando entre 12.45–18.77  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 11.95–15.98  $\mu\text{m}$  e é formada por variável numero de células de superfície (2–9) altamente rugosa e limites pouco distinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara, assim como o agrupamento e sua forma possibilita visualização dos poros

glandulares, mas não de toda vista lateral. Em detalhe, as rugosidades são formadas de uma superfície compacta que se dispões em laminas e projetam pequenas porções cônicas e circulares de comprimento variando entre 0.64–1.02  $\mu\text{m}$ . Entre essas porções pode haver um material granuloso fino que se aglomera. A rugosidade da superfície apical é distinta daquela presente nas laterais da PE, que apresenta projeções circulares mais regulares, uniformes em distribuição e aparentemente achatadas. O ápice possui apenas uma fileira de células.

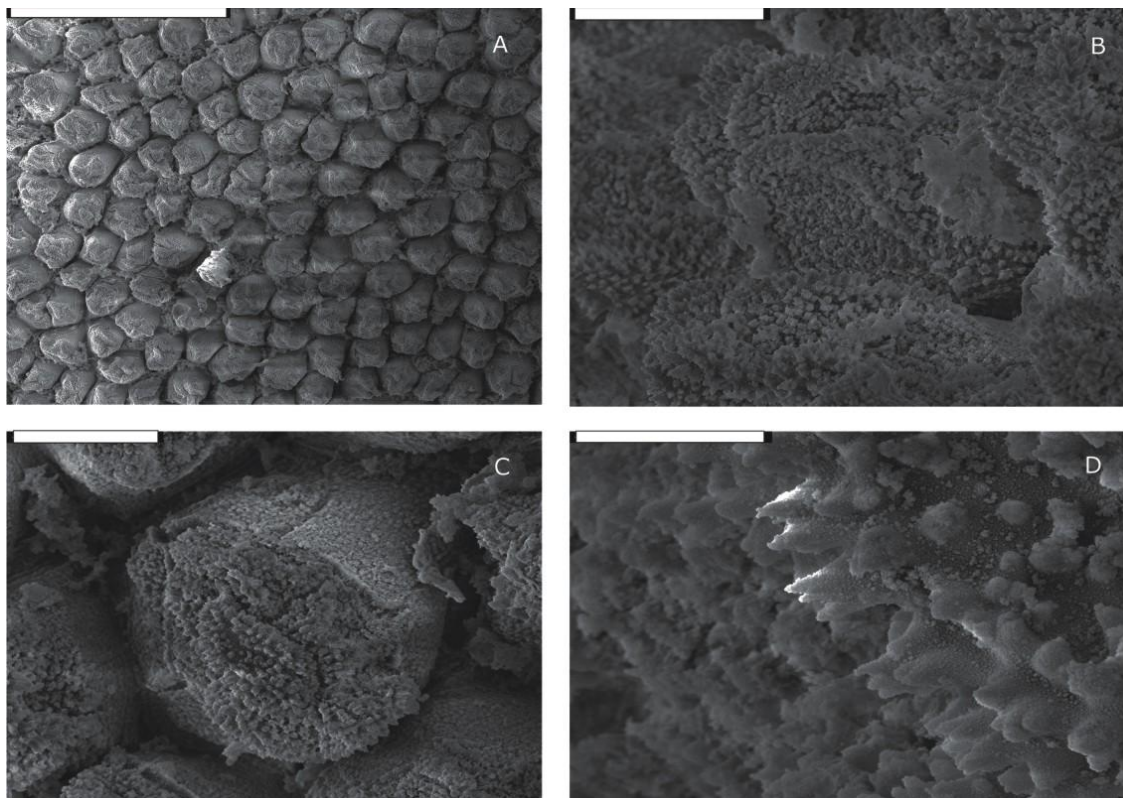


Figura 52. Ultraestrutura da calosidade de *P. lisei*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 10 $\mu\text{m}$  B e C; 2 $\mu\text{m}$  D.

### Grupo *P. olfersii*

*P. orophilus* (figura 53): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 1.18–4.75  $\mu\text{m}$ . A fusão entre



PEs é rara, assim como agrupamentos e sua forma impede a visualização dos poros glandulares e de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 20.76–32.78  $\mu\text{m}$  e ápice formado por células de limites indistinguíveis de superfície altamente rugosa e sem feixes lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de aglomerados alongados e circulares de superfície mais compacta e comprimento variando entre 0.26–0.63  $\mu\text{m}$ . Por cima e entre esses aglomerados, há um material particulado compacto composto por feixes de bastões de comprimento variando entre 0.13–0.23  $\mu\text{m}$ . A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE.

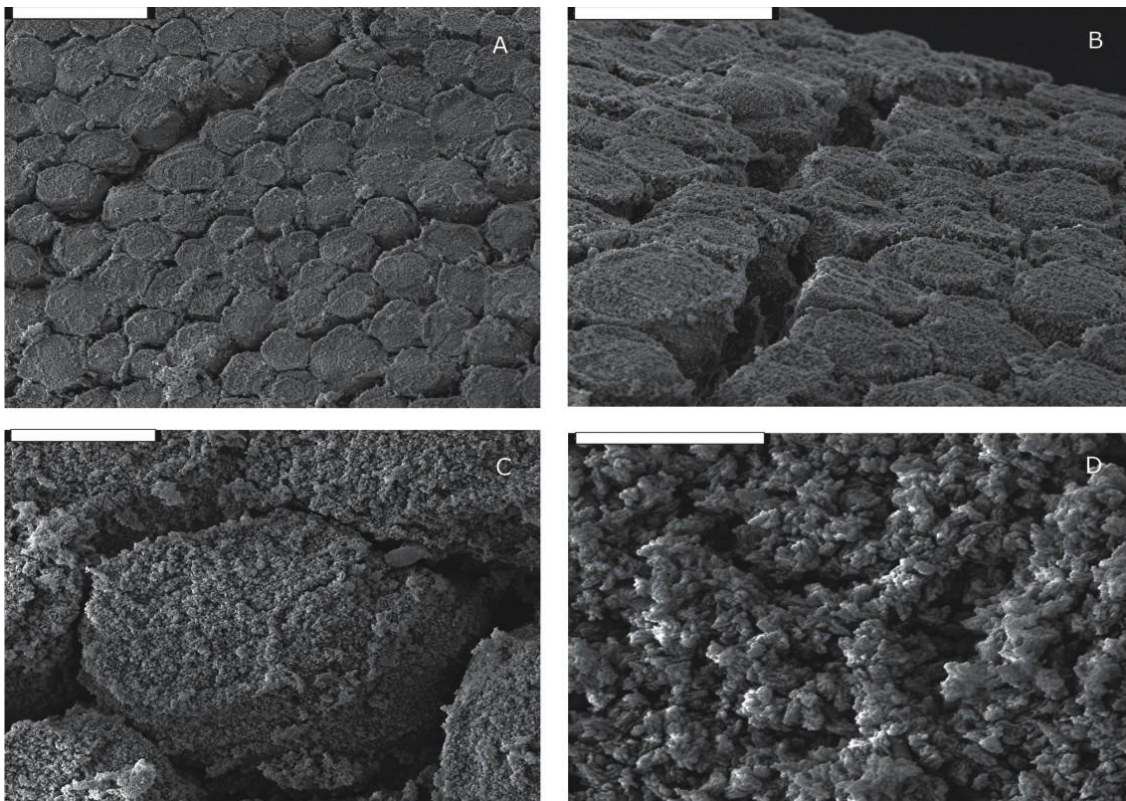


Figura 53. Ultraestrutura da calosidade de *P. orophilus*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 30 $\mu\text{m}$  B; 10 $\mu\text{m}$  C; 2 $\mu\text{m}$  D.

*P. lateristriga* (figura 54): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 4.95–11.07  $\mu\text{m}$ . A fusão entre PEs é rara, assim como os agrupamentos e sua forma impede a visualização dos poros

glandulares e parte de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 21.18–32.97  $\mu\text{m}$  e ápice formado por variável número de células (4–15) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de uma superfície compacta que se dispões em lamínas e projetam pequenas porções cônicas e circulares de comprimento variando entre 0.16–0.25  $\mu\text{m}$ . Entre essas porções pode haver um material granuloso fino que se aglomera. A rugosidade da superfície apical é distinta daquela presente nas laterais da PE, que apresentam projeções circulares mais regulares, uniformes em distribuição e aparentemente achatadas. O ápice possui apenas uma fileira de células.

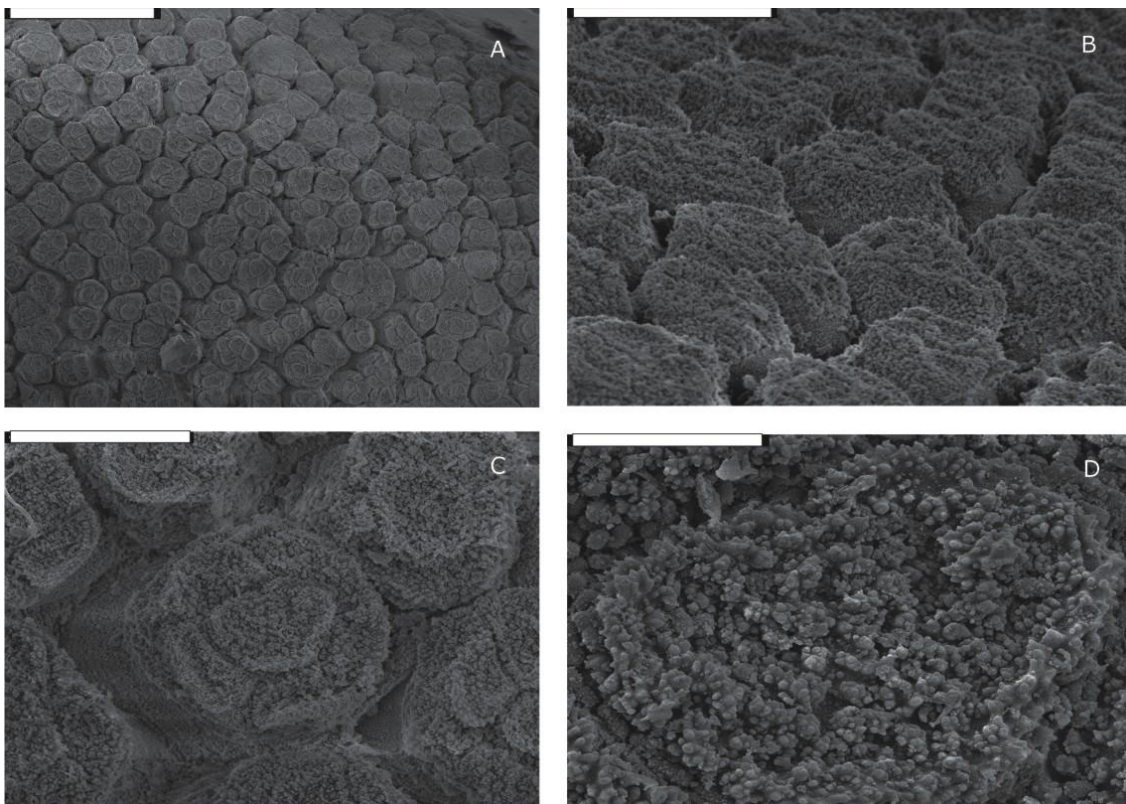


Figura 54. Ultraestrutura da calosidade de *P. lateristriga*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 30 $\mu\text{m}$  B; 20 $\mu\text{m}$  C; 5 $\mu\text{m}$  D.

*P. maximus* (figura 55): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma de lajotas e superfície apical convexa (arredondada) mais estreita (forma quase um cone), de mesma forma, porém mais

rugosas. Cada PE tem maior eixo variando entre 12.86–21.54  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 10.36–22.83  $\mu\text{m}$  e é formada por células de limites indistinguíveis altamente rugosas, com invaginações nos aparentes limites celulares, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara, assim como o agrupamento e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares e toda vista lateral. Em detalhe, as rugosidades são formadas de uma superfície compacta que se dispões em lamínas e projetam pequenas porções cônicas e circulares de comprimento variando entre 0.20–0.26  $\mu\text{m}$ . Entre essas porções pode haver um material granuloso fino que se aglomera. A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE. O ápice possui duas fileiras de células sendo uma central mais externa rodeada pelas demais.

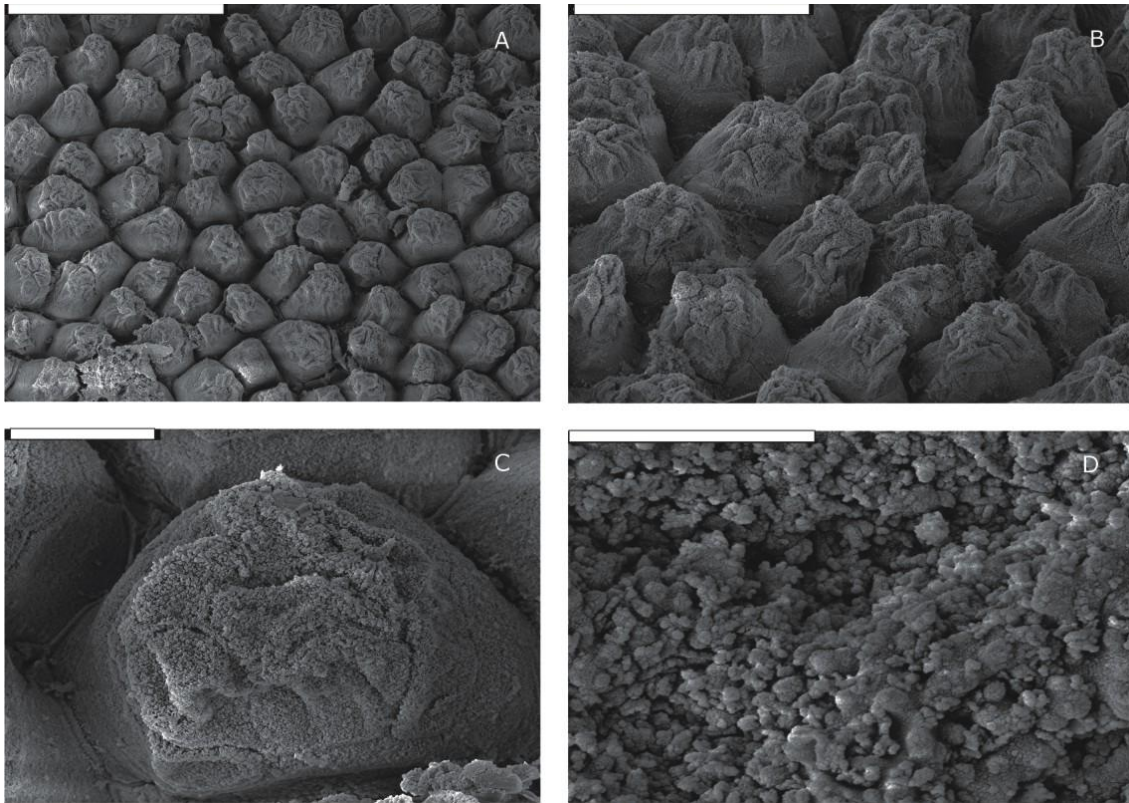
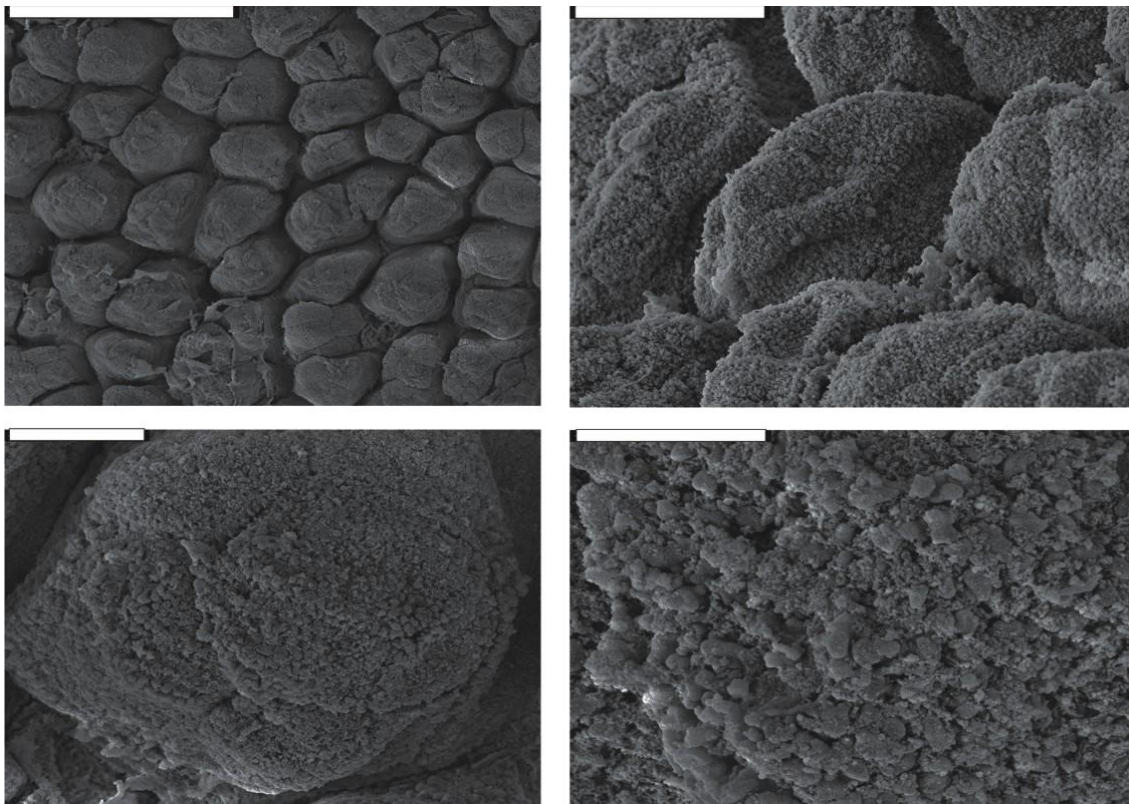


Figura 55. Ultraestrutura da calosidade de *P. maximus*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 50 $\mu\text{m}$  B; 10 $\mu\text{m}$  C; 2 $\mu\text{m}$  D.



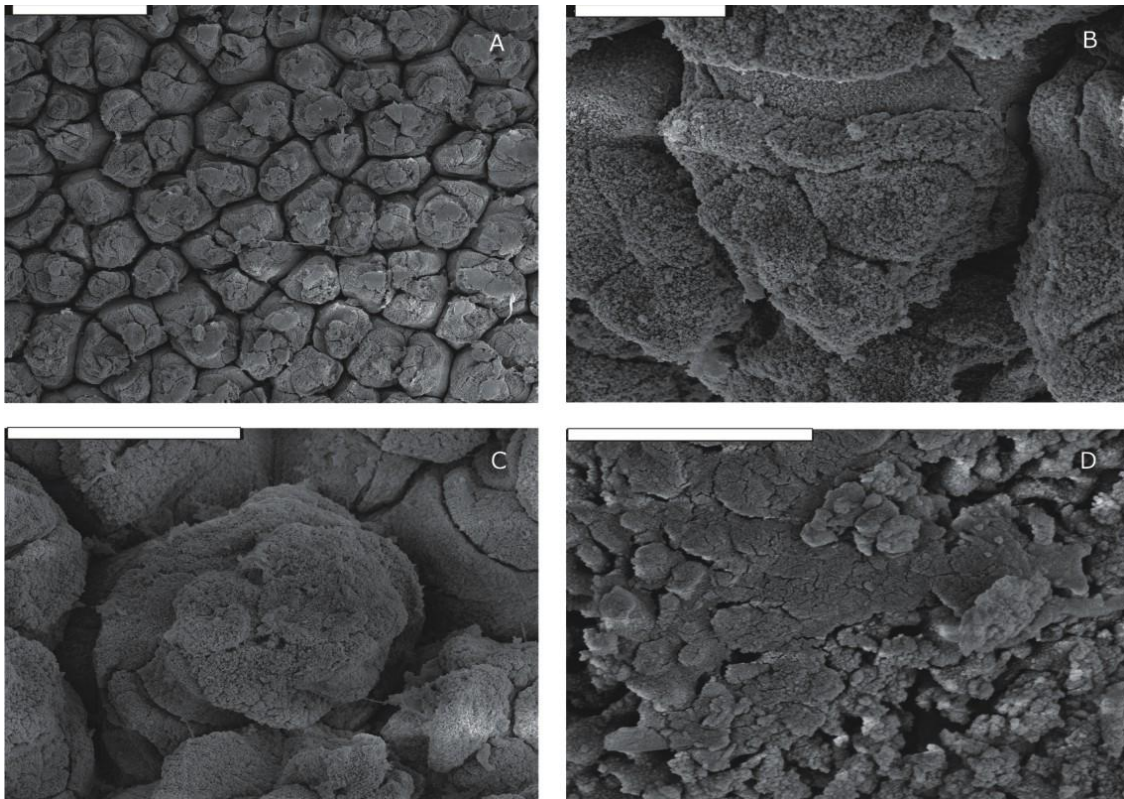
**Grupo *P. biligonigerus*:**

*P. biligonigerus* (figura 56): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma de lajotas e superfície apical convexa (arredondada) mais estreita, de mesma forma e rugosidade similar. Cada PE tem maior eixo variando entre 13.13–22.77  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 2.95–7.56  $\mu\text{m}$  e é formada por variável número de células de superfície (2–9) altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara, mas o agrupamento frequente e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares, mas não de toda vista lateral. Em detalhe, as rugosidades são formadas de aglomerados alongados e circulares de superfície mais compacto e comprimento variando entre 0.26–0.63  $\mu\text{m}$ . Entre esses aglomerados, se formam outros de material particulado fino. Aparentemente, esse material particulado é proveniente de um desgaste abrasivo dos aglomerados maiores.



**Figura 56.** Ultraestrutura da calosidade de *P. biligonigerus*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 10 $\mu\text{m}$  B; 5 $\mu\text{m}$  C; 2 $\mu\text{m}$  D.

***P. marmoratus* (figura 57):** Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma de lajotas e superfície apical convexa (arredondada) mais estreita (forma quase um cone), de mesma forma. Cada PE tem maior eixo variando entre 12.66–13.55  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 8.4–14.31  $\mu\text{m}$  e é formada por variável número de células de superfície (2–9) altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara, assim como o agrupamento e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares, mas não de toda vista lateral. Em detalhe, as rugosidades são formadas de uma superfície compacta que se dispões em lamínas e projetam pequenas porções cônicas e circulares de comprimento variando entre 0.27–0.42  $\mu\text{m}$ . Entre essas porções pode haver um material granuloso fino que se aglomera. A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE. O ápice possui duas fileiras de células sendo uma central mais externa rodeada pelas demais.



**Figura 57.** Ultraestrutura da calosidade de *P. marmoratus*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 10 $\mu\text{m}$  B; 20 $\mu\text{m}$  C; 2 $\mu\text{m}$  D.

#### 4.2.1.2 Clado *P. signifer*

*P. moreirae* (figura 58): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 2.54–7.04  $\mu\text{m}$ . A fusão entre PEs é rara, assim como agrupamentos e sua forma impede a visualização dos poros glandulares e de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 25.05–46.56  $\mu\text{m}$  e ápice formado por variável número de células (2–12) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, separadas frequentemente por feixes (cordões) lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de uma superfície compacta com pequenas projeções circulares ou disformes de comprimento variando entre 0.53–0.83  $\mu\text{m}$ . Entre as pequenas projeções pode haver um material granuloso fino que se aglomera. A rugosidade da superfície apical é distinta daquela presente nas laterais da PE.

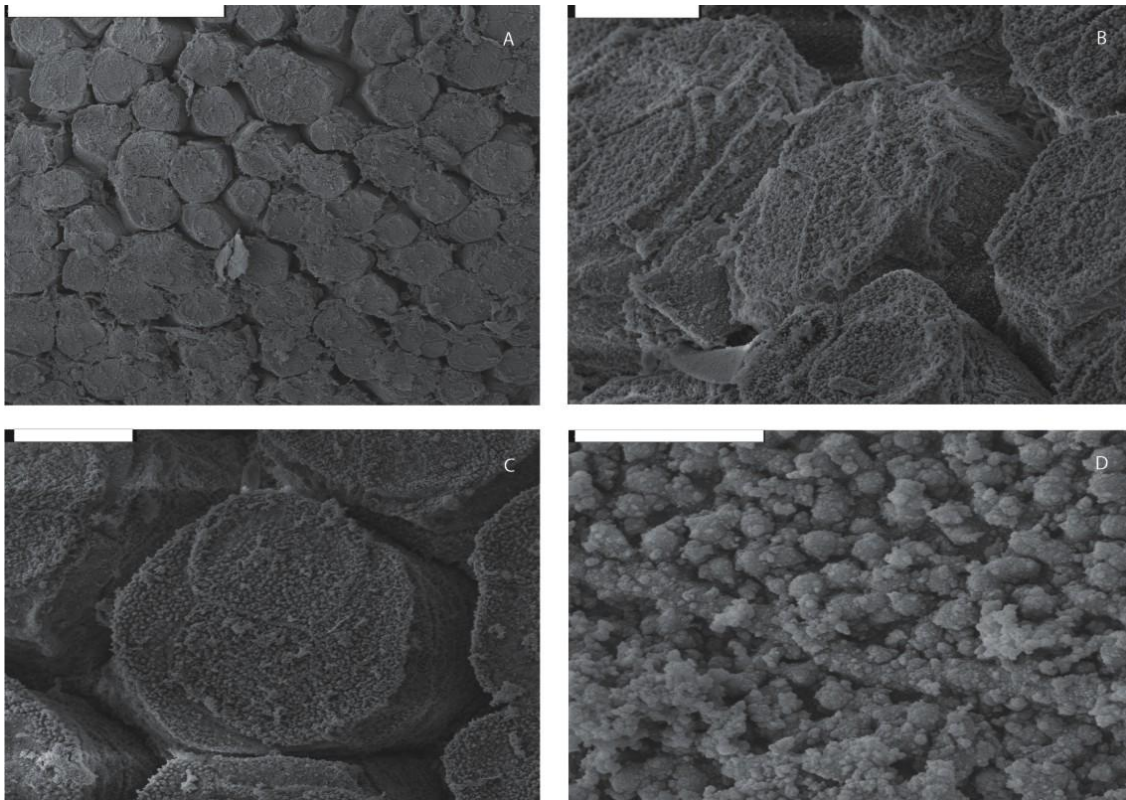


Figura 58. Ultraestrutura da calosidade de *P. moreirae*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 10 $\mu\text{m}$  B e C; 2 $\mu\text{m}$  D.



*P. signifer* (figura 59): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 1.75–6.38  $\mu\text{m}$ . A fusão entre PEs é rara, mas os agrupamentos frequentes e sua forma impede sua visualização lateral e dos poros glandulares. Cada PE tem maior eixo variando entre 23.0–42.36  $\mu\text{m}$  e ápice formado por variável número de células (2–8) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de uma superfície compacta com pequenas projeções circulares ou digitiformes numerosas de comprimento variando entre 0.33–0.61  $\mu\text{m}$ . Espalhadas entre e sobre as pequenas projeções há partículas circulares. A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE.

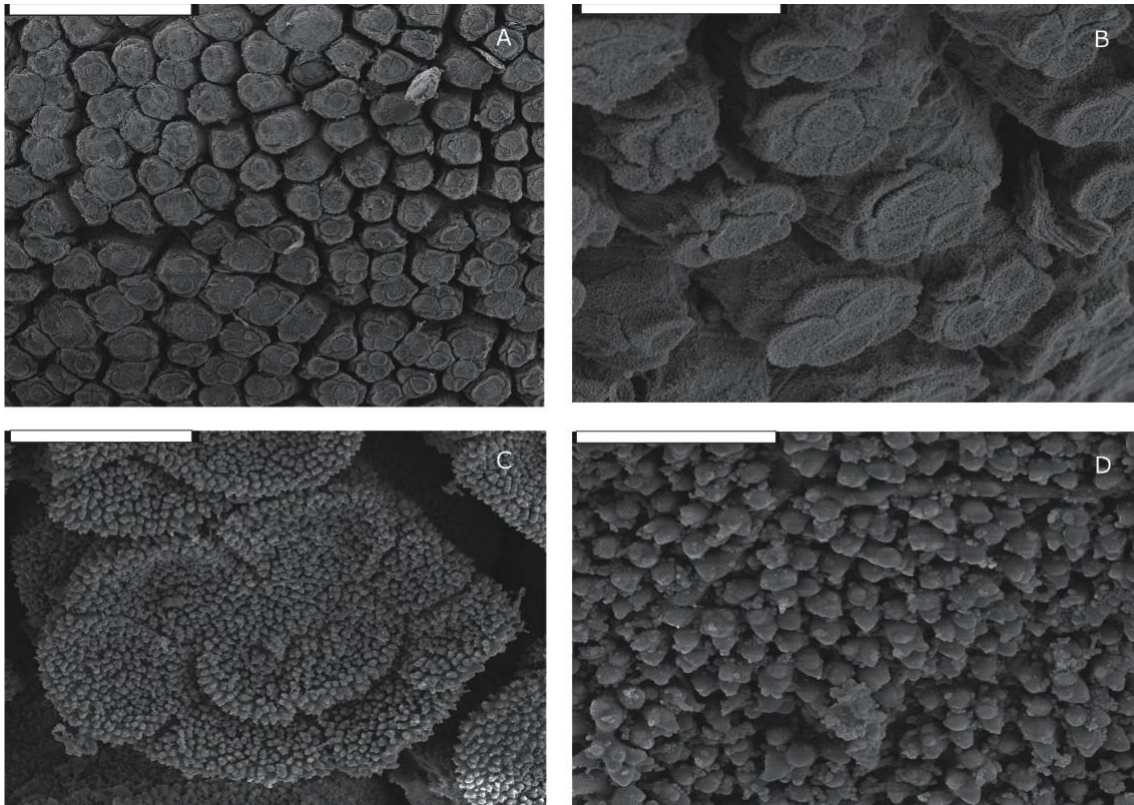
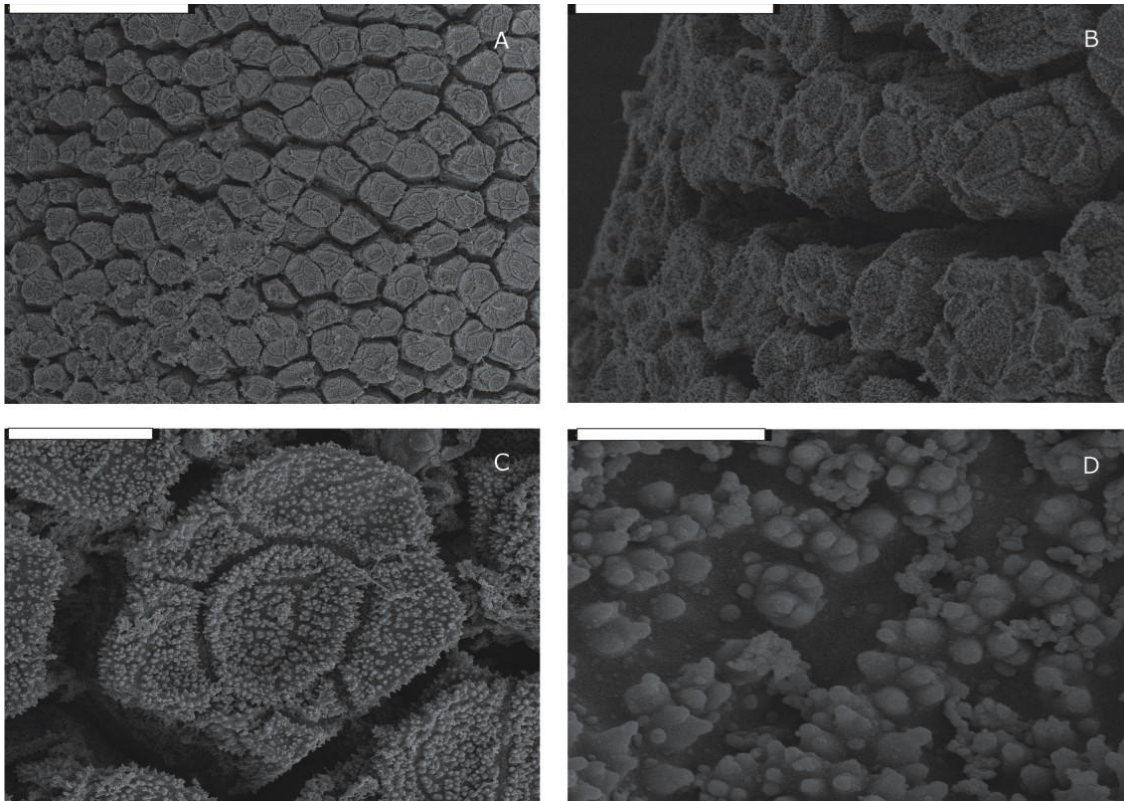


Figura 59. Ultraestrutura da calosidade de *P. signifer*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 30 $\mu\text{m}$  B; 10 $\mu\text{m}$  C; 3 $\mu\text{m}$  D.



***P. nanus* (figura 60):** Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 2.04–10.75  $\mu\text{m}$ . A fusão entre PEs é rara, mas os agrupamentos frequentes e sua forma impede sua visualização lateral, entretanto os poros glandulares são visíveis. Cada PE tem maior eixo variando entre 23.4–39.95  $\mu\text{m}$  e ápice formado por variável número de células (2–7) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de uma superfície compacta com pequenas projeções circulares ou digitiformes esparsas (em relação às outras espécies) de comprimento variando entre 0.19–0.41  $\mu\text{m}$ . A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE.



**Figura 60.** Ultraestrutura da calosidade de *P. nanus*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 30 $\mu\text{m}$  B; 10 $\mu\text{m}$  C; 2 $\mu\text{m}$  D.

### Grupo *P. deimaticus*

*P. deimaticus* (figura 61): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 2.31–8.6  $\mu\text{m}$ . A fusão entre PEs é rara, assim como agrupamentos e sua forma impede a visualização dos poros glandulares e de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 32.07–52.15  $\mu\text{m}$  e ápice formado por células de limites indistinguíveis, sem feixes lisos e de superfície altamente rugosa. Em detalhe, as rugosidades são formadas de uma superfície compacta que se dispões em lamínas e projetam pequenas porções cônicas e circulares de comprimento variando entre 0.18–0.38  $\mu\text{m}$ . Entre essas porções pode haver um material granuloso fino que se aglomera. A rugosidade da superfície apical é distinta daquela presente nas laterais da PE, que apresentam pequenas projeções circulares mais regulares, uniformes em distribuição e aparentemente achatadas. O ápice possui apenas uma fileira de células.

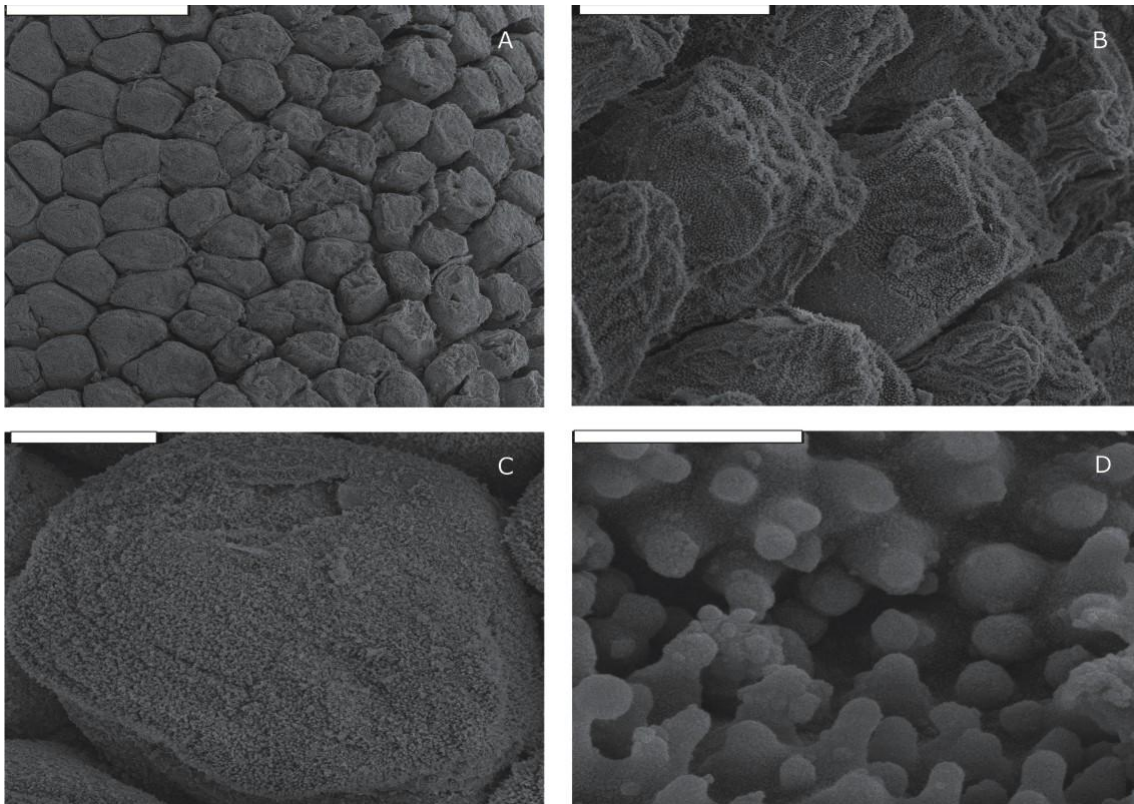


Figura 61. Ultraestrutura da calosidade de *P. deimaticus*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 20 $\mu\text{m}$  B; 10 $\mu\text{m}$  C; 1 $\mu\text{m}$  D.

*P. erythros* (figura 62): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs (colunas, cilindros), de superfície apical achatada, em forma de lajotas disformes e rugosas separados por espaços entre 1.85–4.5  $\mu\text{m}$ . A fusão entre PEs é rara, assim como agrupamentos e sua forma impede a visualização dos poros glandulares e de sua visualização lateral. Cada PE tem maior eixo variando entre 29.76–40.47  $\mu\text{m}$  e ápice formado por variável número de células (4–14) de superfície altamente rugosa e limites distinguíveis, sem feixes lisos. Em detalhe, as rugosidades são formadas de uma superfície compacta que se dispões em lamina e projetam pequenas porções cônicas e circulares de comprimento variando entre 0.23–0.44  $\mu\text{m}$ . Entre essas porções pode haver um material granuloso fino que se aglomera. A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE.

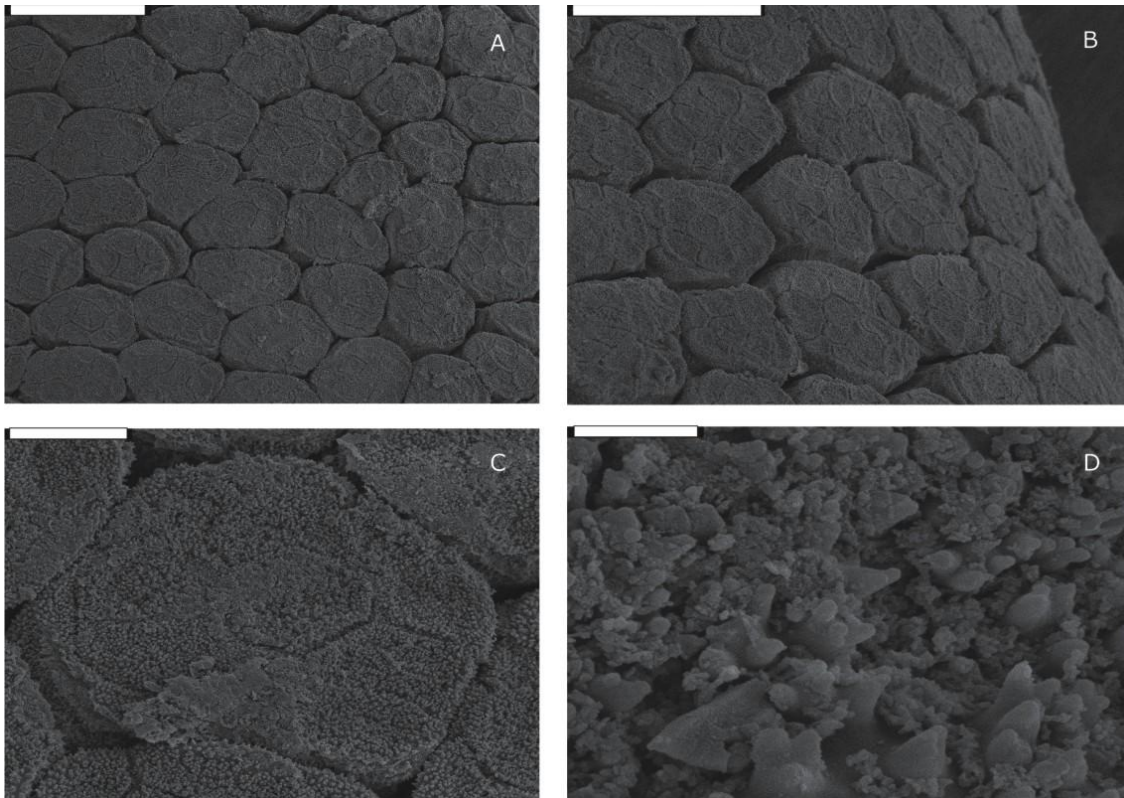


Figura 62. Ultraestrutura da calosidade de *P. erythros*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 50 $\mu\text{m}$  B; 10 $\mu\text{m}$  C; 2 $\mu\text{m}$  D.



#### 4.2.2 *Pseudopaludicola*

*P.serrana* (figura 63): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs de superfície apical ligeiramente convexa (arredondada) ou achatada e rugosidade uniforme. Cada PE tem maior eixo variando entre 19.24–38.04  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 2.43–3.54  $\mu\text{m}$  e é formada por variável número de células de superfície (2–9) altamente rugosa e limites fracamente distinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara, mas o agrupamento frequente e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares, mas não de toda vista lateral. Em detalhe, as rugosidades são formadas de aglomerados de material granulado fusionado que projetam pequenas porções disformes e de comprimento variando entre 0.15–0.40  $\mu\text{m}$ . A rugosidade da superfície apical é semelhante àquela presente nas laterais da PE.

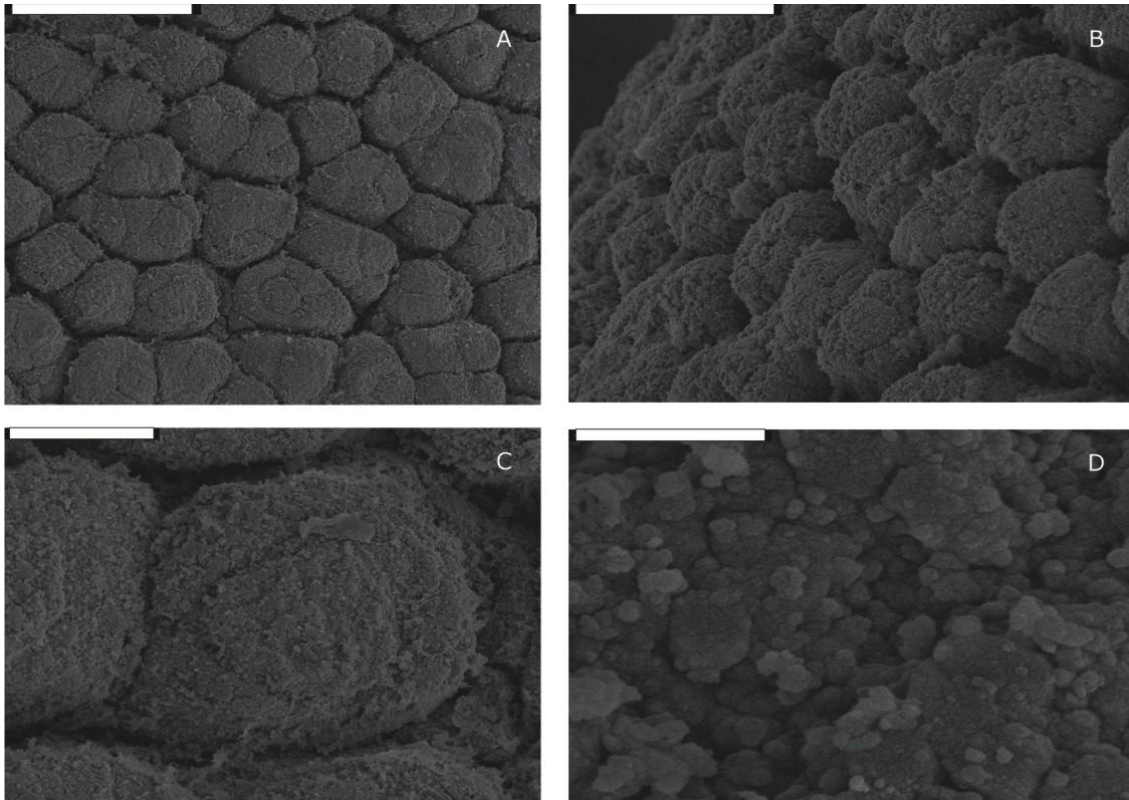


Figura 63. Ultraestrutura da calosidade de *P.serrana*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 30 $\mu\text{m}$  B; 10 $\mu\text{m}$  C; 1 $\mu\text{m}$  D.

### 4.2.3 Pleurodema

*P. diplolister* (figura 64): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma arredondada a poliédrica e superfície apical convexa (arredondada) mais estreita. Cada PE tem maior eixo variando entre 30.63–36.82  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 1.34–3.12  $\mu\text{m}$  e é formada por células de superfície altamente rugosa e limites indistinguíveis, sem feixes lisos. A fusão e agrupamento entre PEs é rara e sua forma possibilita visualização de parte da vista lateral, mas não dos poros glandulares. Parte das membranas celulares das células mais apicais sofrem especializações que vistas dorsalmente se assemelham a folhas com pequenas projeções arredondadas sobre toda sua superfície. Quanto a disposição, não há qualquer tipo de padrão aparente. Em detalhe, essas superfícies são compactas, com grande quantidade de pequenas projeções dispostas sobre um plano liso. As pequenas projeções medem entre 0.29–0.49  $\mu\text{m}$ .

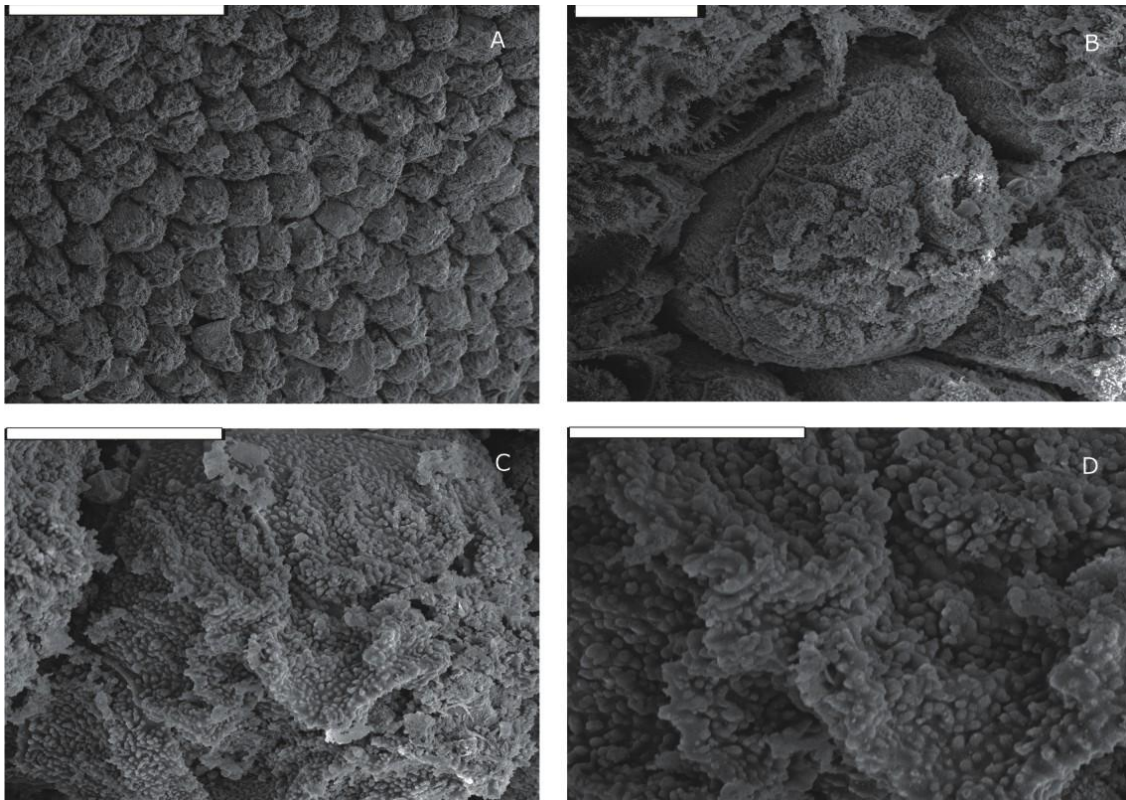


Figura 64. Ultraestrutura da calosidade de *P. diplolister*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 10 $\mu\text{m}$  B e C; 5 $\mu\text{m}$  D.

#### 4.2.4 *Paratelmatoebius*

*P. cardosoi* (figura 65): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma elíptica e superfície apical pontiaguda (cônica) mais estreita. Cada PE é visivelmente comprimida no eixo maior da elipse, tem entre 31.64–35.88  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 0.8–1.29  $\mu\text{m}$  e é formada por células de superfície pouco rugosa e limites indistinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares e toda vista lateral. Parte das membranas celulares das células mais apicais sofrem especializações que vistas dorsalmente se assemelham a grandes superfícies achatadas com projeções afiladas digitiformes (cilíndricas) nas bordas. Quanto a disposição, as especializações se distribuem apenas na parte apical da PE com as superfícies achatadas basais mais dispersas (podendo ser projeções isoladas) voltadas para as bordas e as apicais, maiores, voltadas para cima. As projeções basais apontam para as bordas e as apicais para cima. Em vista lateral as superfícies achatadas são inclinadas em direção ao ápice e suas bordas podem formar superfícies retas, com diversas pontas ou uma única ponta. Em detalhe, essas superfícies e as projeções são compactas e lisas em toda porção apical do morro quando comparadas a granulação de outras regiões. As superfícies medem entre 3.85–6.84  $\mu\text{m}$ .

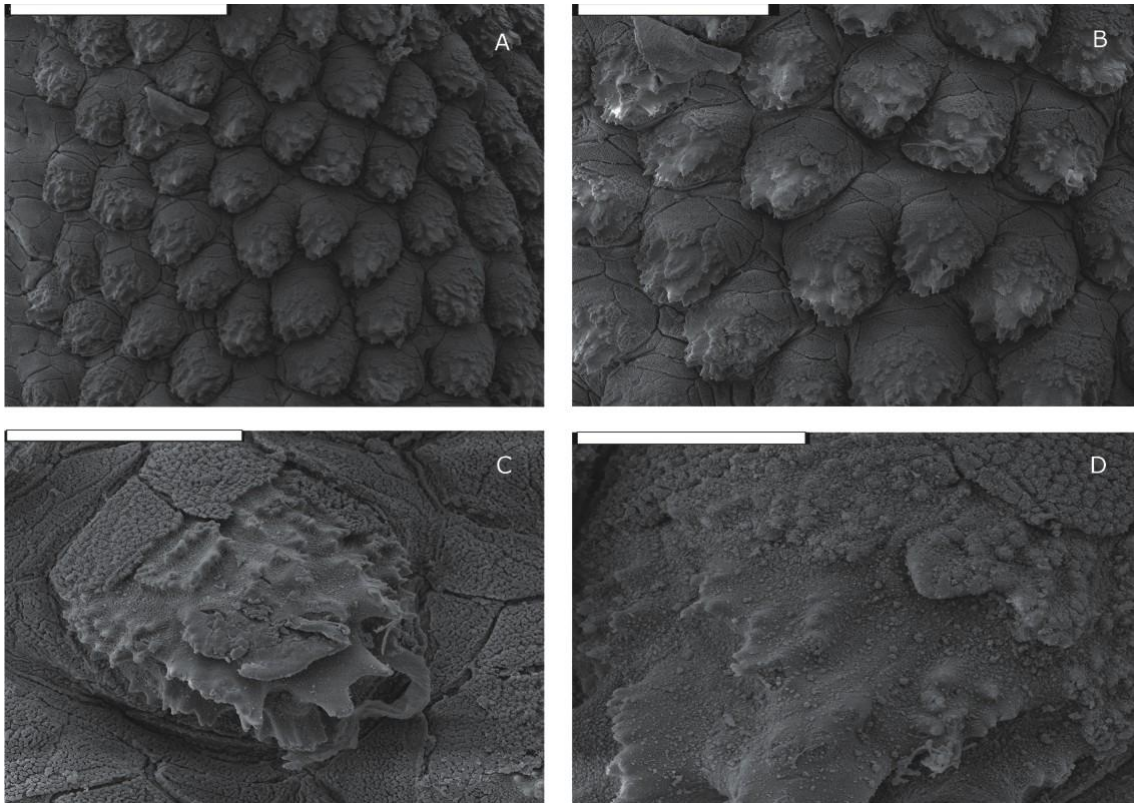


Figura 65. Ultraestrutura da calosidade de *P. cardosoi*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu$ m A; 50 $\mu$ m B; 20 $\mu$ m C; 10 $\mu$ m D.

*P. gaigeae* (figura 66): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma arredondada e superfície apical pontiaguda (em forma de cone) mais estreita. Cada PE tem maior eixo variando entre 40.44–46.92  $\mu$ m, é separada por espaços entre 2.91–10.65  $\mu$ m e é formada por células de superfície pouco rugosa e limites indistinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares e toda vista lateral. Parte das membranas celulares das células mais apicais sofrem especializações que vistas dorsalmente se assemelham a círculos. Quanto a disposição, as especializações se distribuem apenas na parte apical da PE com os círculos formando pequenos morros sobre a superfície lateral e um grande prolongamento no ápice. Os morros e prolongamento central possuem uma superfície apical que pode ser ligeiramente achatada e coberta por uma série de pequenas projeções circulares. Em vista lateral a



face da PE voltada para a parte distal do dedo é mais retilínea, enquanto a outra face, ligeiramente curvada (côncava). Em detalhe, essas superfícies são compactas e levemente granuladas enquanto a porção mais basal da PE é lisa. Pedacos de material particulado, provavelmente descamações, são encontrados sobre superfície. As superfícies apicais medem entre 5.00–8.61  $\mu\text{m}$  e as basais de 2.52–5.87  $\mu\text{m}$ .

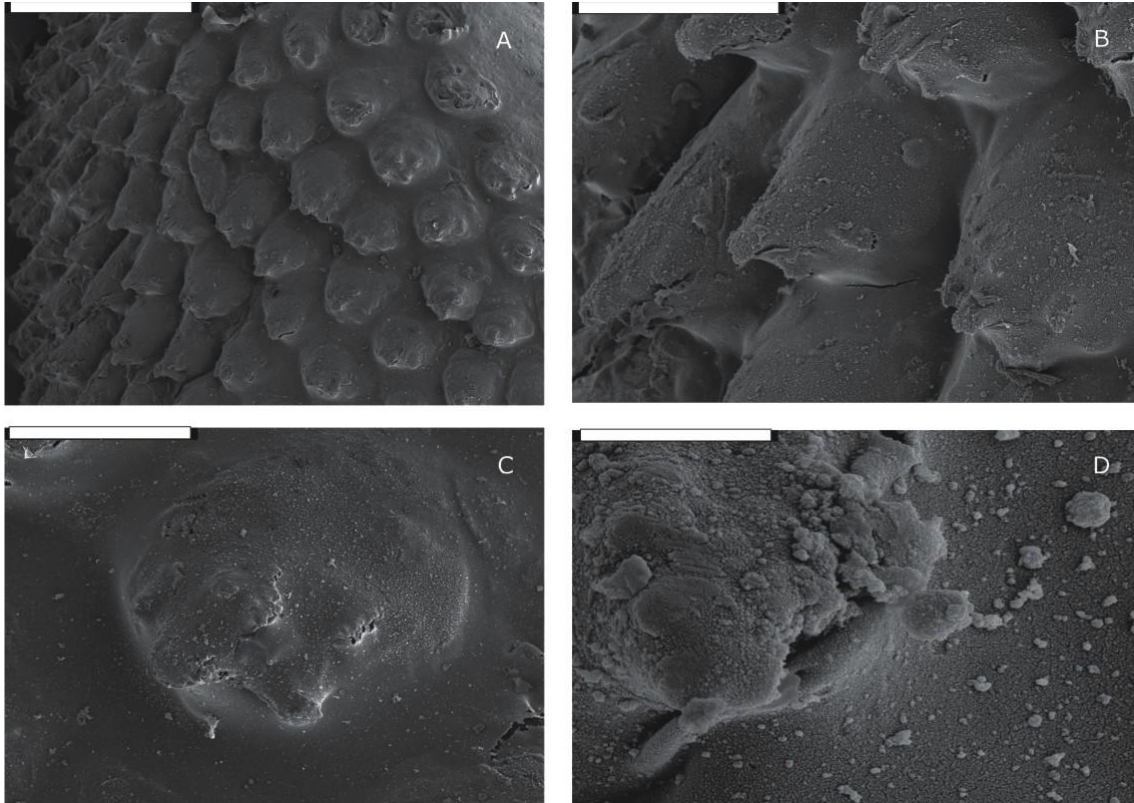
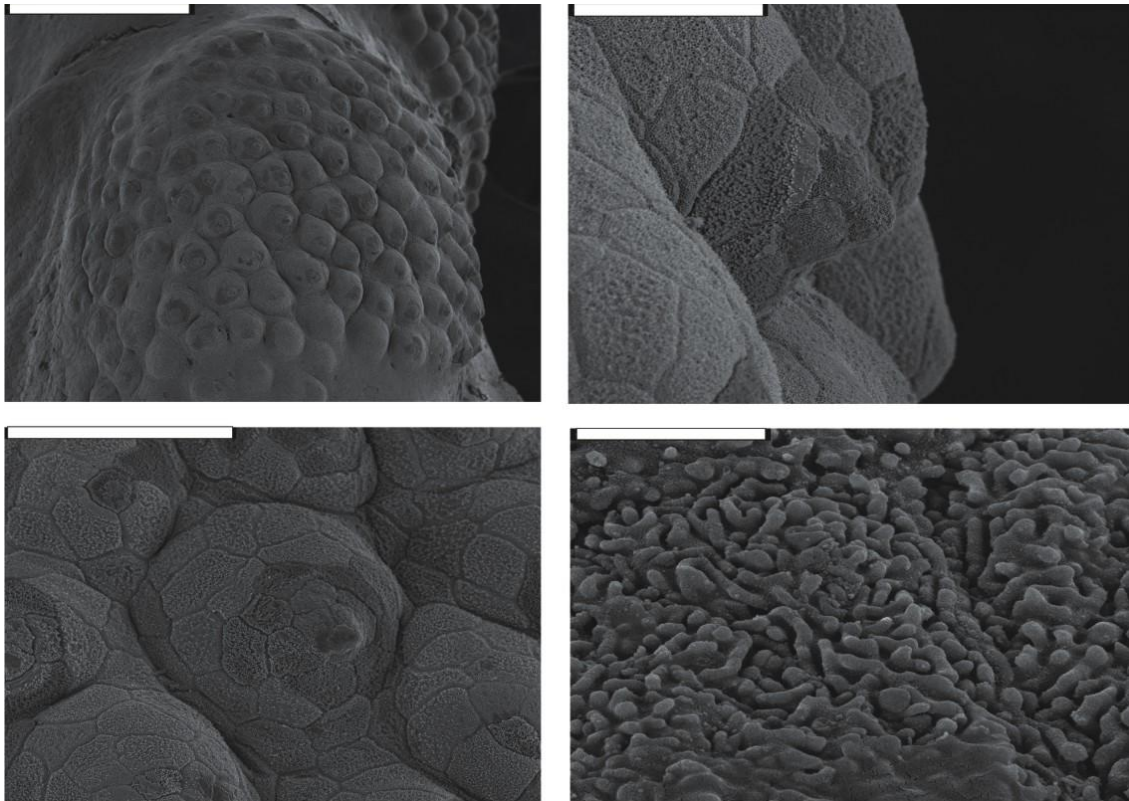


Figura 66. Ultraestrutura da calosidade de *P. gaigeae*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 30 $\mu\text{m}$  B; 20 $\mu\text{m}$  C; 2 $\mu\text{m}$  D.

***P. lutzii* (figura 67):** Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma arredondada e superfície apical pontiaguda (em forma de cone) mais estreita. Cada PE tem maior eixo variando entre 49.75–69.90  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 1.16–2.09  $\mu\text{m}$  e é formada por células de superfície pouco rugosa e limites claramente distinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares e toda vista lateral. As membranas celulares das células mais apicais sofrem especializações que vistas

dorsalmente têm coloração mais escura e diferente textura. Quanto a disposição, as especializações são compostas de uma célula apical central, circundada por outras. Em vista lateral a face da PE voltada para a parte distal do dedo é mais retilínea, enquanto a outra face, ligeiramente curvada (côncava). As células mais basais (fora da especialização) possuem uma ornamentação de membrana mais reticulada com projeções muito finas que se interconectam. Ao entrar na especialização (uma fileira de células de comprimento), as membranas celulares têm ornamentações em pequenos discos. No ápice (duas fileiras de células de comprimento), as ornamentações de membrana tem aspecto de linhas (cordões). Em detalhe, a superfície apical é compacta com cordões convolutos (aspecto de córtex cerebral) de superfície lisa e comprimento variável entre 0.36–2.62  $\mu\text{m}$ .



**Figura 67. Ultraestrutura da calosidade de *P. lutzii*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100 $\mu\text{m}$  A; 20 $\mu\text{m}$  B; 50 $\mu\text{m}$  C; 2 $\mu\text{m}$  D.**

*P. poecilogaster* (figura 68): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma arredondada e superfície apical pontiaguda (forma geral cilíndrica/cônica) ligeiramente mais estreita. Cada PE tem maior eixo variando entre 41.51–46.68  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 1.74–7.01  $\mu\text{m}$  e é formada por células de superfície pouco rugosa e limites parcialmente distinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares e toda vista lateral. Parte das membranas celulares das células mais apicais sofrem especializações que vistas dorsalmente se assemelham a poliedros com pequenos círculos em sua superfície. Quanto a disposição, as especializações se distribuem apenas na parte apical da PE com um poliedro central circundado por outros. Em vista lateral a PE é basicamente cilíndrica (ligeiramente cônica). O ápice tem uma projeção trapezoide central voltada para cima enquanto as outras projeções, trapezoides a cônicas (duas camadas de células) são voltadas no sentido látero-apical. Em detalhe, essas superfícies são compactas e levemente granuladas (bem como o restante da PE). Pedacos de material particulado, descamações provavelmente, são encontrados sobre superfície. No ápice as projeções circulares são como pequenos cilindros curtos de superfície achatada. As projeções apicais medem entre 10.62–12.23  $\mu\text{m}$  e as basais de 3.03–7.55  $\mu\text{m}$ .

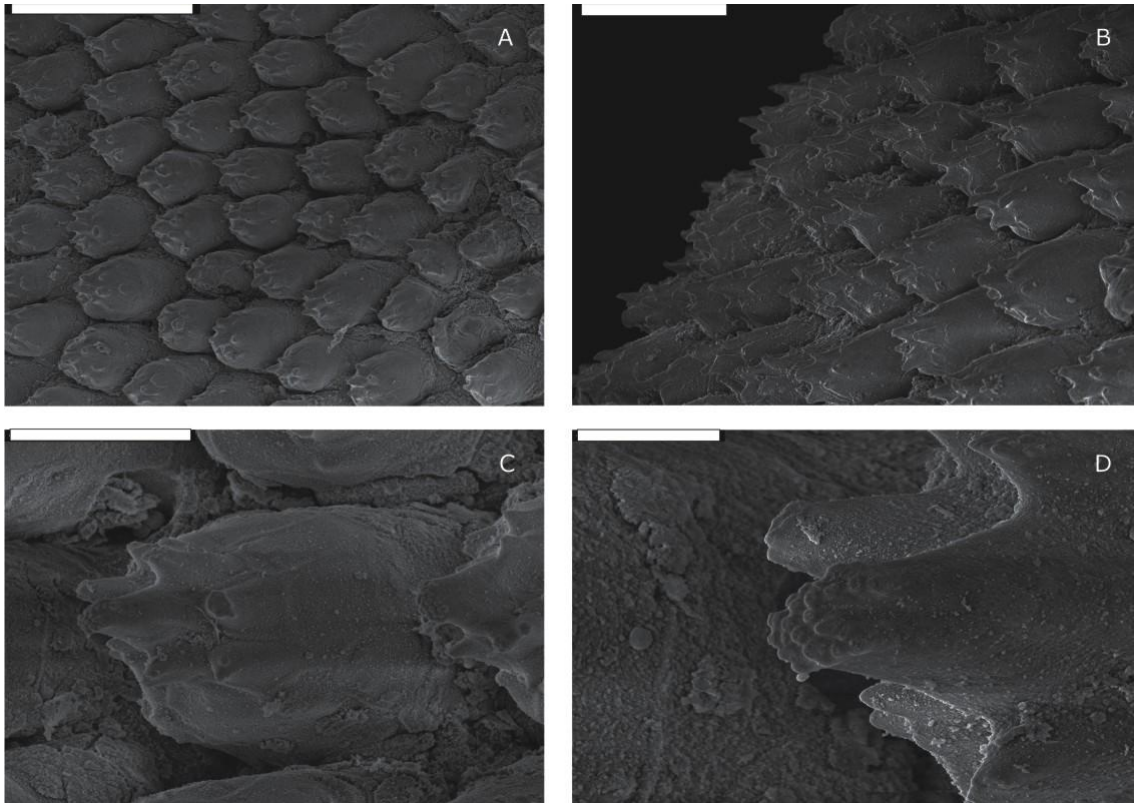


Figura 68. Ultraestrutura da calosidade de *P. poecilogaster*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 100µm A; 50µm B; 20µm C; 5µm D.

#### 4.2.5 *Crossodactylodes*

*C. bokermanni* (figura 69): O calo se apresenta pouco distinto do restante da pele do dedo do animal, a não ser por seu aspecto liso, pouco rugoso, que permite estabelecer seus limites. Os espinhos formadores do calo têm tamanhos diferentes entre si, de forma que aqueles das margens laterais e próximos da falange distal costumam ser menores que os demais (312–202 µm). Os espinhos se curvam ligeiramente em direção proximal. Em vista dorsal, cada espinho da calosidade tem forma elíptica em sua base que se afila gradualmente até o ápice. Na base e regiões próximas, é possível se notar os limites celulares das células constitutivas do espinho. Mais próximo ao ápice, os limites celulares se tornam indistinguíveis. Em detalhe, nota-se uma camada de queratina com rugosidade fina e compacta com esparsos pedaços celulares maiores.

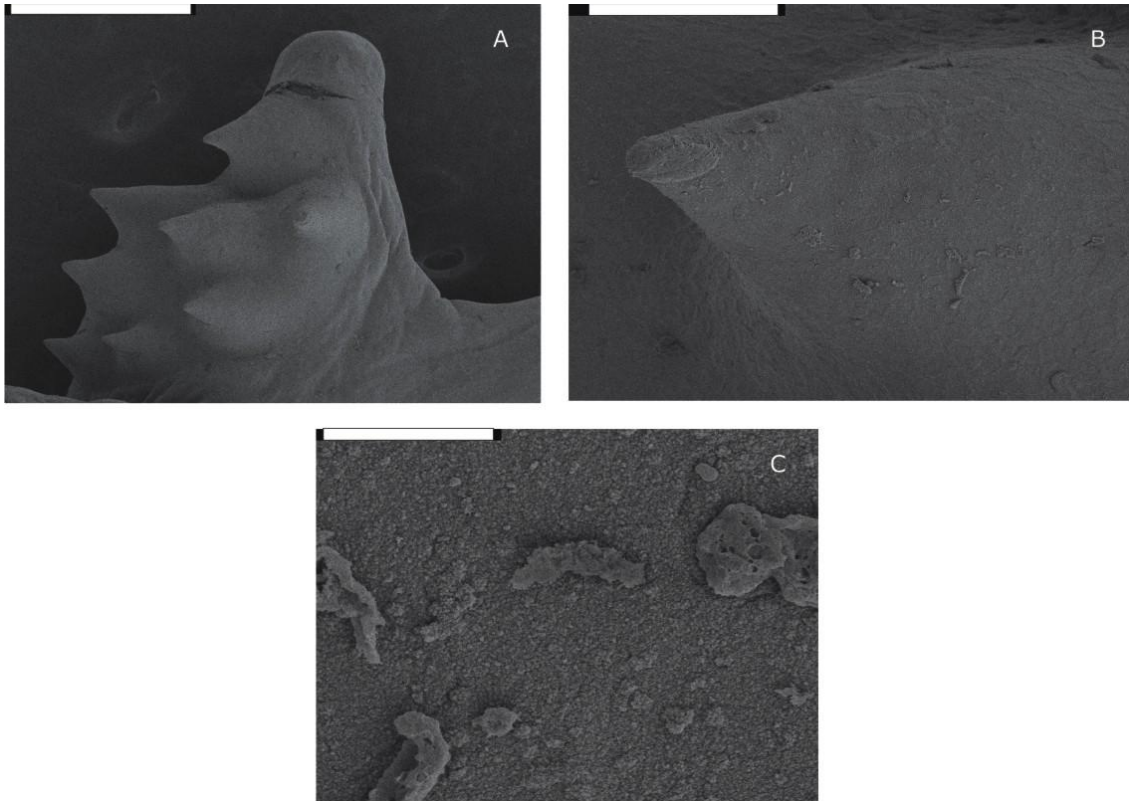


Figura 69. Ultraestrutura da calosidade de *C. bokermanni*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral (B). Detalhe da superfície (C). Escala: 100 $\mu$ m A; 50 $\mu$ m B; 10 $\mu$ m C.

***C. itambe* (figura 70):** O calo se apresenta pouco distinto do restante da pele do dedo do animal, a não ser por seu aspecto liso, pouco rugoso, que permite estabelecer seus limites. Os espinhos formadores do calo têm tamanhos diferentes entre si, de forma que aqueles das margens laterais e próximos da falange distal costumam ser menores que os demais (255,52–186,05  $\mu$ m). Os espinhos se curvam ligeiramente em direção proximal. Em vista dorsal, cada espinho da calosidade tem forma circular em sua base que se afila gradualmente até o ápice. Na base e regiões próximas, é possível se notar os limites celulares das células constitutivas do espinho. Mais próximo ao ápice, os limites celulares se tornam indistinguíveis. Em detalhe, nota-se uma camada de queratina com rugosidade fina e compacta com esparsos pedaços celulares maiores.



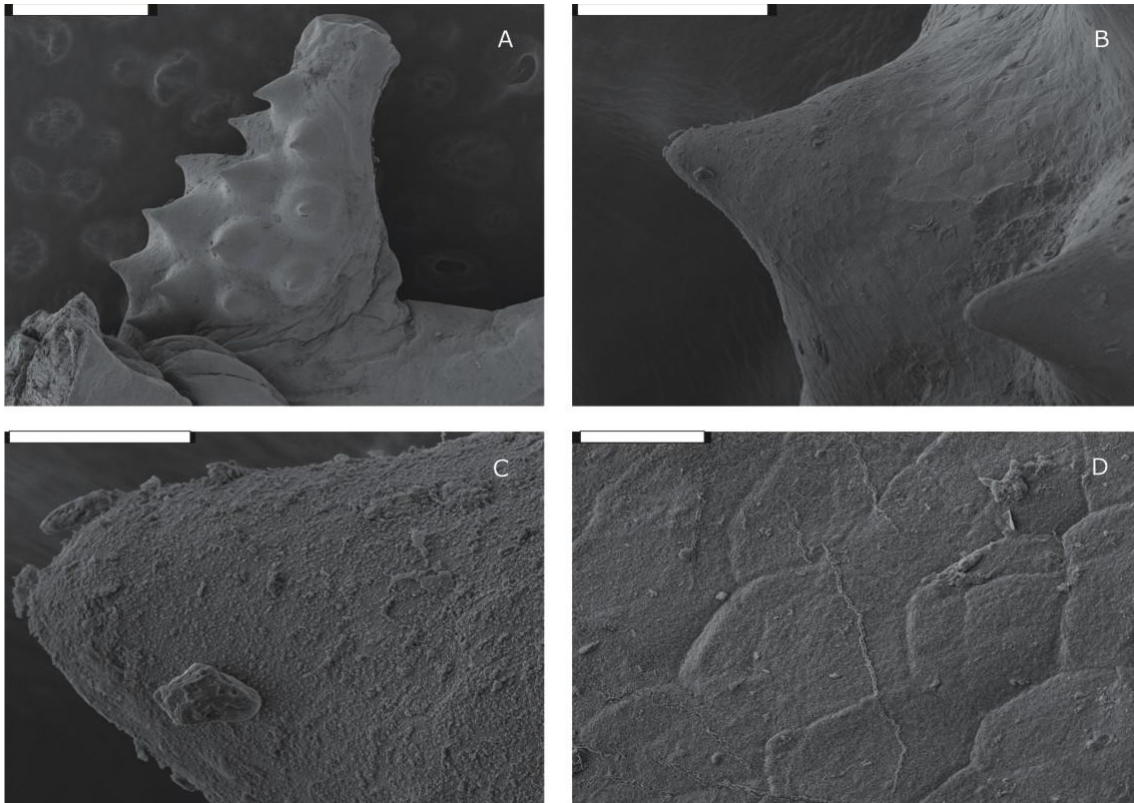


Figura 70. Ultraestrutura da calosidade de *C. itambe*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral (B). Detalhe da superfície apical (C). Detalhe da superfície na base (D). Escala: 500 $\mu$ m A; 100 $\mu$ m B; 20 $\mu$ m C; 10 $\mu$ m D.

#### 4.2.6 *Rupirana*

***R. cardosoi* (figura 71):** Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma elíptica a circular e superfície apical convexa (arredondada) mais estreita. Cada PE tem maior eixo variando entre 51.14–67.68  $\mu$ m, é separada por espaços entre 3.72–6.20  $\mu$ m e é formada por células de superfície pouco rugosa e limites indistinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares e parte da vista lateral. Parte das membranas celulares das células mais apicais sofrem especializações que vistas dorsalmente se assemelham a círculos. Quanto a disposição, um círculo central é rodeado por fileiras de outros círculos relativamente paralelas aos eixos da elipse. Em vista lateral essas especializações são prolongamentos da membrana celular que formam

um tipo de pedúnculo que se expande em uma superfície apical achatada. Cada morro possui um pedúnculo com expansão em seu ápice e demais pedúnculos abaixo desse. Em detalhe, essas superfícies são compactas e lisas quando comparadas a granulação fina das demais partes da membrana e medem entre 10.53–13.04  $\mu\text{m}$ .

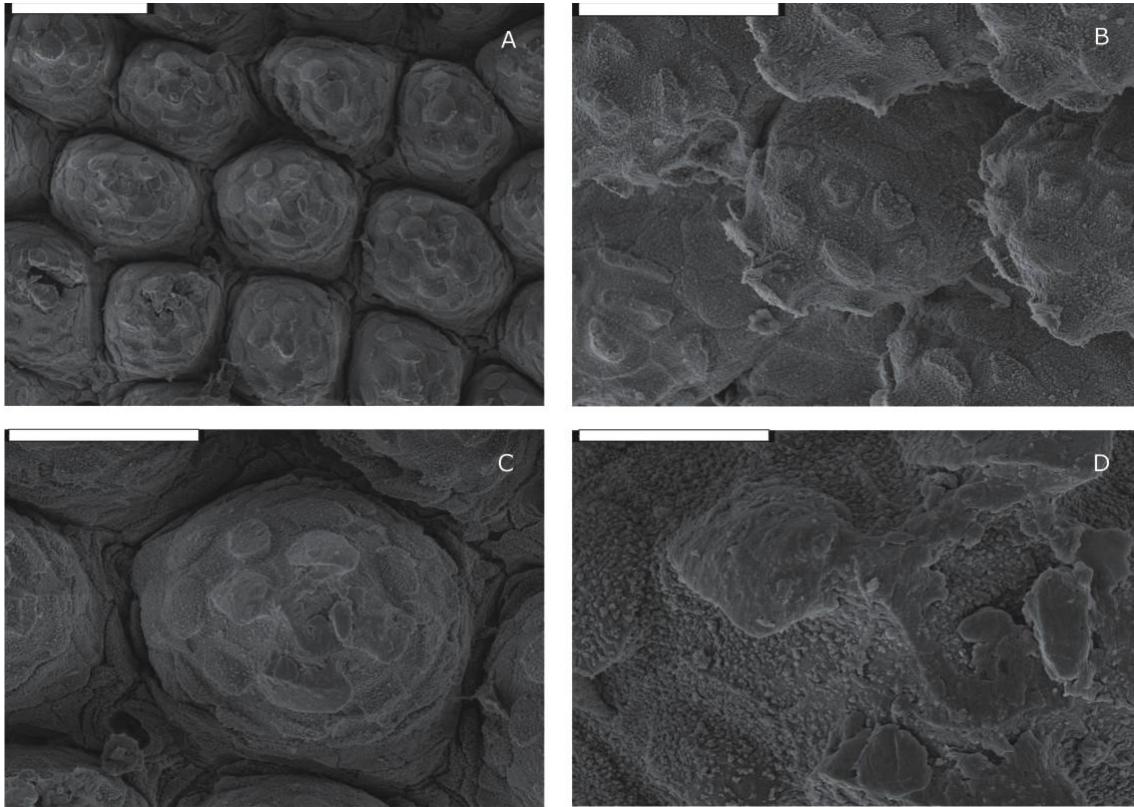


Figura 71. Ultraestrutura da calosidade de *R. cardosoi*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 30 $\mu\text{m}$  B e C; 10 $\mu\text{m}$  D.

#### 4.2.7 *Scytrophrys*

*S. arijui* (figura 72): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma arredondada a poliédrica e superfície apical convexa (arredondada) mais estreita. Cada PE tem maior eixo variando entre 19.22–22.7  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 0.23–2.55  $\mu\text{m}$  e é formada por células de superfície rugosa e limites indistinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara e



sua forma possibilita visualização dos poros glandulares e parte da vista lateral. Parte das membranas celulares das células mais apicais sofrem especializações que vistas dorsalmente se assemelham a superfícies achatadas com projeções afiladas digitiformes (cilíndricas) nas bordas. Quanto a disposição, as especializações se distribuem apenas na parte apical do morro com as projeções achatadas perpendicularmente ao eixo da circunferência e apontando para cima ou para as bordas. Em vista lateral as superfícies achatadas são inclinadas em direção ao ápice. Em detalhe, essas superfícies são rugosas e as projeções compactas e lisas e medem entre 1.54–2.23  $\mu\text{m}$ .

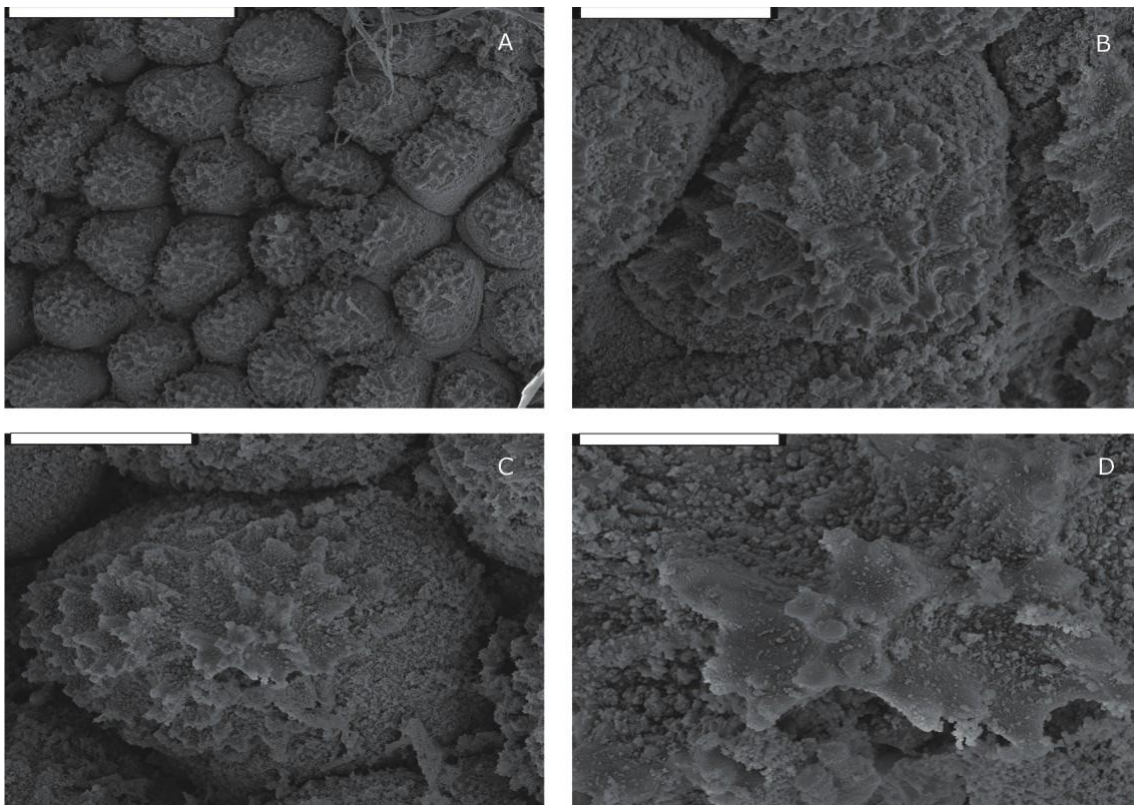
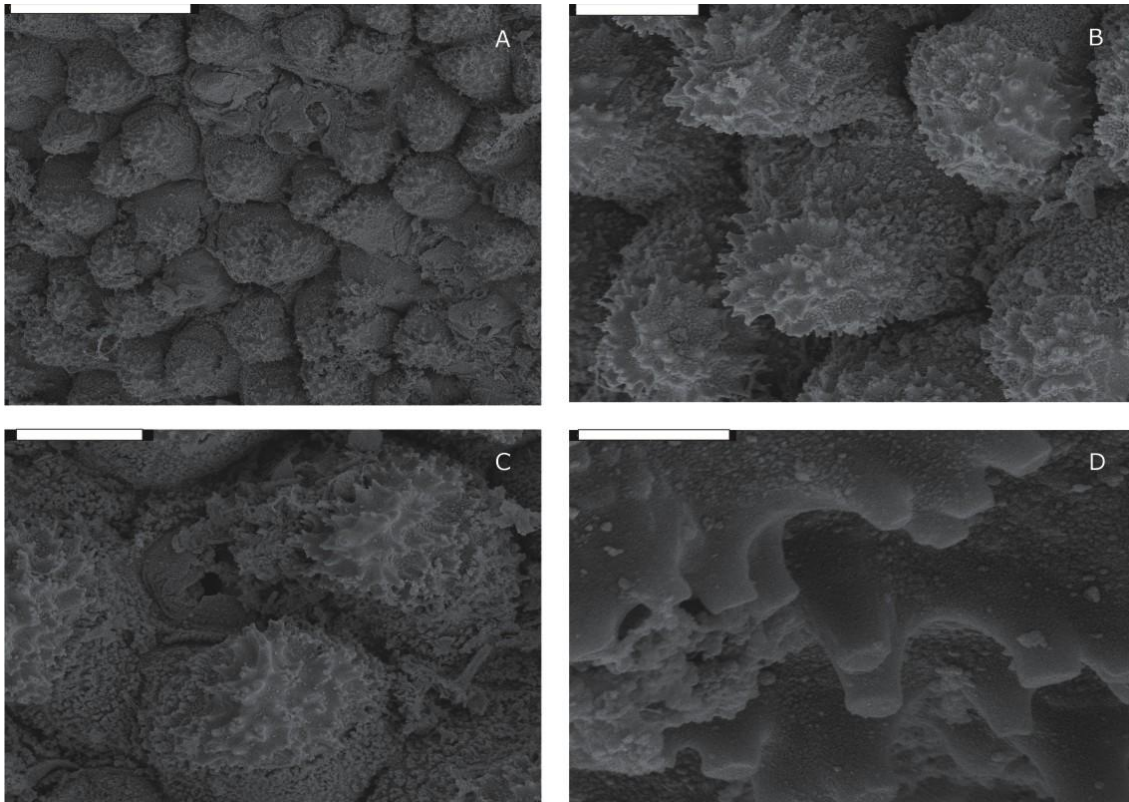


Figura 72. Ultraestrutura da calosidade de *S. arijui*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 10 $\mu\text{m}$  B e C; 3 $\mu\text{m}$  D.

*S. sawayae* (figura 73): Calo distinto do restante da pele do dedo do animal, apresentando PEs com base mais larga, em forma arredondada a poliédrica e superfície apical convexa (arredondada) mais estreita. Cada PE tem maior eixo variando entre 21.87–32.51  $\mu\text{m}$ , é separada por espaços entre 0.69–1.54  $\mu\text{m}$  e é formada por células de

superfície rugosa e limites indistinguíveis, sem feixes lisos. A fusão entre PEs é rara e sua forma possibilita visualização dos poros glandulares e parte da vista lateral. Parte das membranas celulares das células mais apicais sofrem especializações que vistas dorsalmente se assemelham a superfícies achatadas com projeções afiladas digitiformes (cilíndricas) nas bordas. Quanto a disposição, as especializações se distribuem apenas na parte apical do morro com as projeções achatadas perpendicularmente ao eixo da circunferência e apontando para cima ou para as bordas. Em vista lateral as superfícies achatadas são inclinadas em direção ao ápice. Em detalhe, essas superfícies e as projeções são compactas e lisas em toda porção apical do morro quando comparadas a granulação fina de outras regiões. As projeções tem ápice com uma depressão em forma de ventosa e medem entre 0.58–1.26  $\mu\text{m}$ .



**Figura 73.** Ultraestrutura da calosidade de *S. sawayae*. Visão panorâmica dorsal da superfície (A). Vista lateral da PE (B). PE individualizada (C). Detalhe das microprojeções (D). Escala: 50 $\mu\text{m}$  A; 10 $\mu\text{m}$  B e C; 1 $\mu\text{m}$  D.

## 4.3 Descrição Histológica

### 4.3.1 Visão geral

Todas as espécies apresentam epitélio estratificado pavimentoso queratinizado. Ao longo de toda superfície do calo nupcial, observa-se o padrão de rugas e sulcos complementares formados pela epiderme e derme, originando papilas dérmicas e cristas epidérmicas.

O estrato germinativo é composto por quatro a seis camadas de células. Em sua camada adjacente a derme, as células são cúbicas a colunares com núcleos arredondados a achatados lateralmente e possuem eixo celular perpendicular a lâmina basal. Em suas camadas mais apicais as células são poliédricas arredondadas com núcleo arredondado. A camada adjacente ao estrato córneo possui ornamentações (reentrâncias) intercelulares que resultam na forma da superfície deste último. A superfície celular em contato com o estrato córneo é lisa. As mitoses são comuns em todas as camadas do estrato germinativo.

O estrato córneo é diferente daquele presente nas porções do epitélio sem calosidade. Além da queratina clara da pele, uma queratina escura, particulada e mais dura reveste a porção apical da projeção epidérmica. Entretanto a queratina clara envolve as partes laterais, separando cada projeção epidérmica.

Cada crista epidérmica é formada ao redor de uma célula grande, clara e de núcleo arredondado proveniente da derme, na porção apical da papila dérmica. Acima da célula central dérmica, poucas células se amontoam em apenas duas ou três camadas abaixo do estrato córneo.

A derme é formada por dois estratos. O estrato esponjoso é característico por seu maior número de fibroblastos e fibrócitos com núcleos em direções variadas. É perceptível como uma camada mais espessa adjacente a epiderme e como finas prolongações de tecido conjuntivo entre as glândulas. O estrato compacto, subjacente ao esponjoso, apresenta menor número de células em disposição paralela à superfície da epiderme formando uma fina camada. Imersos na porção apical do estrato esponjoso observam-se melanócitos em quantidades variáveis. Os vasos sanguíneos são

encontrados tanto no estrato esponjoso quanto compacto em diversos calibres. Feixes nervosos em pequeno número e diversos tamanhos se localizam na porção basal do estrato esponjoso. Por fim, no estrato esponjoso estão imersas numerosas glândulas que serão descritas a seguir.

As glândulas nupciais (GN) são tubulosas simples, com ductos diferenciados compostos por células cúbicas de núcleo arredondado, e células de núcleo achatados na transição do duto para a porção secretora. As células secretoras são colunares, com núcleo basal, escuro, de forma arredondada a achatada no plano baso-apical e os grânulos de secreção ocupam a maior parte do volume citoplasmático. Algumas células secretoras são distintas, com núcleo basal achatado, citoplasma claro e disforme (mais inchado). Contornando a porção secretora há núcleos de células mioepiteliais escuros e alongados. Pelo tamanho dos grânulos de secreção, três tipos de GNs são diferenciados ou glândulas com grânulos em diferentes estados de maturação. A grande maioria das espécies apresentou uma ligeira positividade ao PAS indicando a presença de mucosubstâncias neutras, corando uniformemente toda glândula. Em *Pa. poecilogaster*, *Pa. lutzii* e *R. cardosoi* as glândulas se coraram de maneira uniforme e forte. Entretanto, as glândulas de *Pa. poecilogaster* e *R. cardosoi* parecem distintas das demais, as da primeira espécie possuindo lumens amplos e células secretoras mais baixas e a da segunda, glândulas bem pequenas. *Ph. erytros* apresenta uma coloração uniforme intermediária. Células secretoras esparsas foram coradas em sua superfície apical de forma acentuada em *Pleurodema*, e em *Physalaemus* no clado *Ph. signifer*: em *Ph. deimaticus* e (*Ph. nanus*, (*Ph. signifer*, *Ph. moreirae*)); e no clado *Ph. cuvieri*: em *Ph. marmoratus*, *Ph. biligonigerus* (grupo *Ph. biligonigerus*), *Ph. maximus*, *Ph. lateristriga* (grupo *Ph. olfersii*), *Ph. lisei* (grupo *Ph. gracilis*), *Ph. albifrons* (grupo *Ph. cuvieri*). Para AB pH 2.5 *P. lisei*, *P. biligonigerus* e *Pl. diplolister* a coloração foi positiva na superfície apical de adenômeros esparsos, indicando a produção de mucosubstâncias carboxiladas. Apenas em *P. diplolister* e *P. alium* houve positividade para AB 0.5, em condições celulares semelhantes às de AB 2.5, indicando produção de mucosubstâncias sulfatadas.

Outro tipo de glândula serosa (GG), semelhante à descrita na literatura geral para anuros, também foi encontrada sob o epitélio da calosidade nupcial. São glândulas tubulosas simples, sinciciais, sem lúmen, de células secretoras com núcleo escuro e

achatado em seu plano baso-apical. Contornando a porção secretora há células mioepiteliais de núcleo escuro e alongado.

## **4.3.2 Características específicas**

### **4.3.2.1 Clado *P. cuvieri***

#### **Grupo *P. cuvieri***

***P. cuvieri* (figura 74):** Estrato germinativo com crista possuindo de 6–9 células (4 camadas), com um platô de 1–3 células mais externas.

No estrato córneo a queratina dura apresenta um padrão mais plano em sua superfície externa e podemos identificar, em certas cristas, o número de células apicais pela formação de interrupções na queratina. Projeções de queratina podem ser formadas ultrapassando os limites laterais das células apicais. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto rugoso.

Na derme estão presentes GNs com grânulos de secreção grandes e GNs com grânulos pequenos. Ambas medindo entre 0,093mm e 0,076mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,015 e 0,016).

A espessura da epiderme tem média de 0,10mm em suas porções mais espessas e 0,08mm nas mais finas (sd = 0,008 e 0,006). O epitélio 0,31mm em suas porções mais espessas e 0,24mm nas mais finas (sd = 0,03 e 0,025).



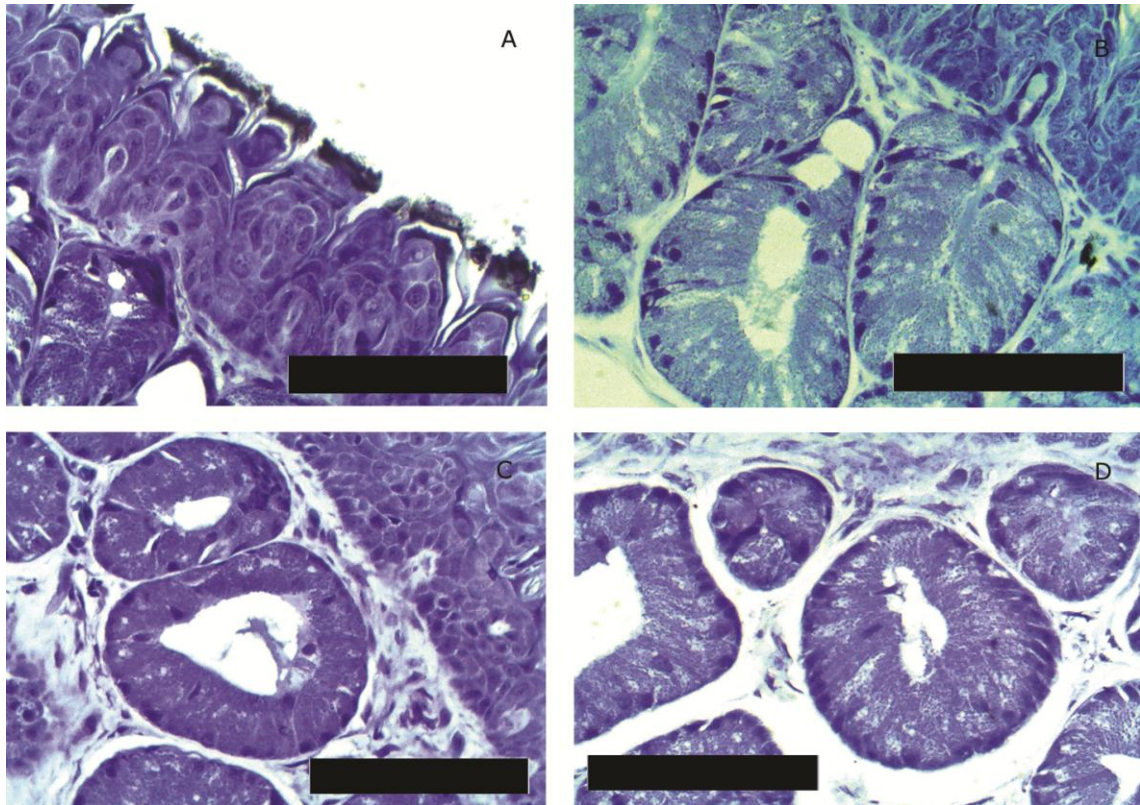


Figura 74. Histologia da calosidade nupcial de *P. cuvieri*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS. (C) GN corada com AB pH 2.5. (D) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C e D feita com azul de toluidina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

***P. centralis* (figura 75):** Estrato germinativo com crista possuindo de 3–8 células (4 camadas) com um platô de 1–3 células mais externas.

No estrato córneo a queratina dura apresenta um padrão mais plano em sua superfície externa e podemos identificar, em certas cristas, o número de células apicais pela formação de interrupções na queratina. Projeções de queratina podem ser formadas ultrapassando os limites laterais das células apicais. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto rugoso.

Na derme estão presentes GNs com apenas um tamanho de grânulo. Medem entre 0,12mm e 0,1mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,016 e 0,018). Presença também de GGs medindo 0,08mm e 0,055mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,024 e 0,0057).



A espessura da epiderme tem média de 0,105mm em suas porções mais espessas e 0,048mm nas mais finas (sd = 0,007 e 0,001). O epitélio 0,3mm em suas porções mais espessas e 0,24mm nas mais finas (sd = 0,07 e 0,065).

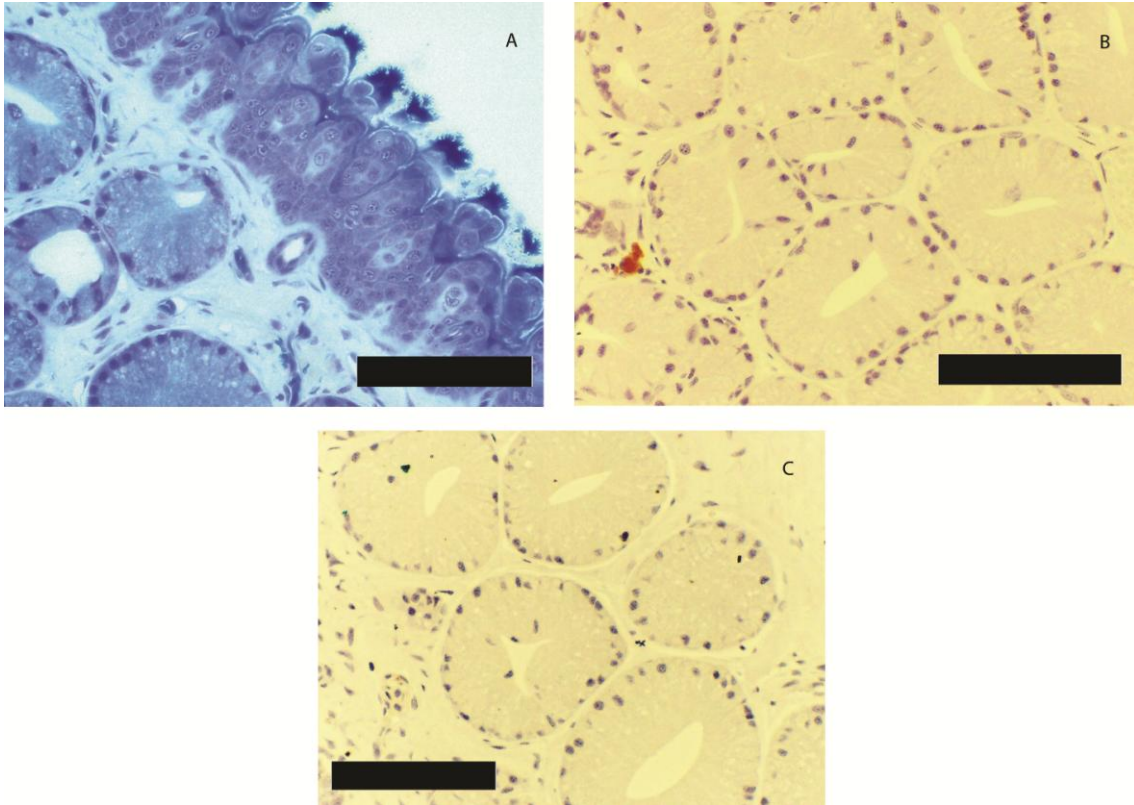


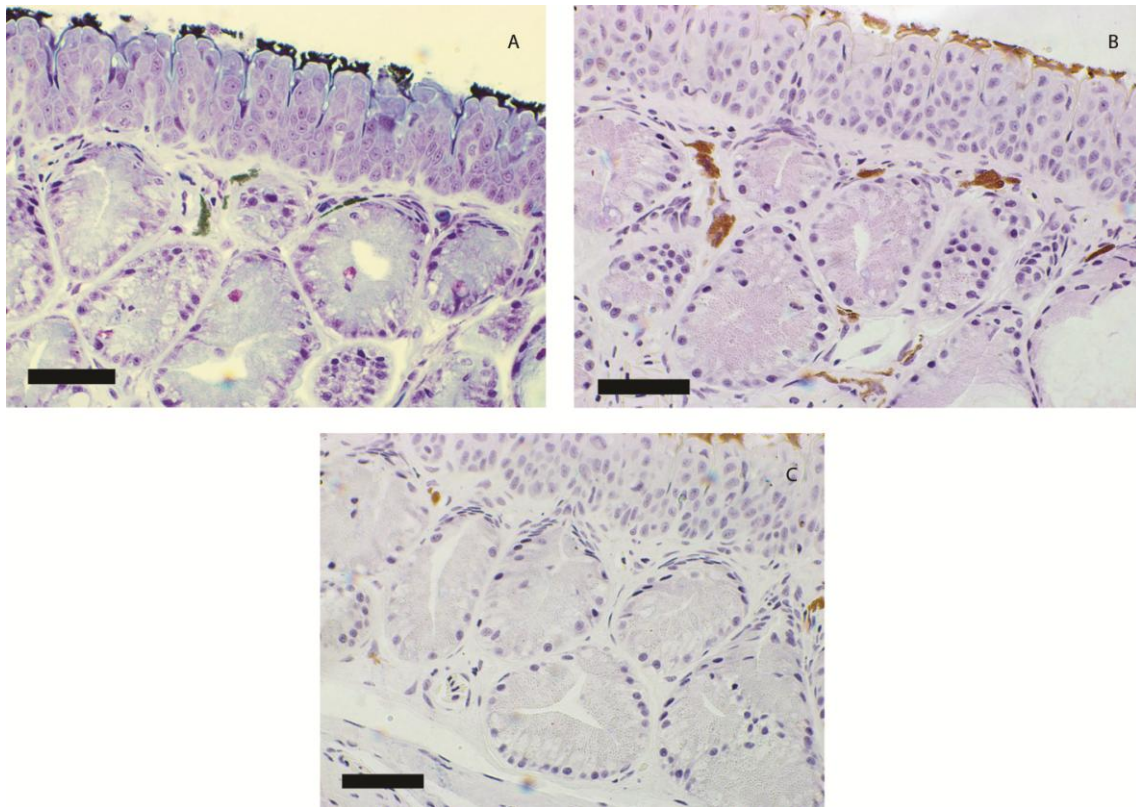
Figura 75. Histologia da calosidade nupcial de *P.centralis*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

***P.kroyeri* (figura 76):** Estrato germinativo com crista possuindo de 5–8 células (4 camadas) com um platô de 1–3 células mais externas.

No estrato córneo a queratina dura apresenta um padrão mais plano em sua superfície externa e podemos identificar, em certas cristas, o número de células apicais pela formação de interrupções na queratina. Projeções de queratina podem ser formadas ultrapassando os limites laterais das células apicais. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto rugoso.

Na derme estão presentes GNs com apenas um tamanho de grânulo. Medem entre 0,115mm e 0,087mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,019 e 0,012). Presença também de GGs medindo 0,085mm e 0,055mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,02 e 0,007).

A espessura da epiderme tem média de 0,15mm em suas porções mais espessas e 0,03mm nas mais finas (sd = 0,014 e 0,006). O epitélio 0,27mm em suas porções mais espessas e 0,158mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,007).



**Figura 76. Histologia da calosidade nupcial de *P.kroyeri*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.**

***P. albonotatus* (figura 77):** Estrato germinativo com crista possuindo de 4–5 células (4 camadas) com um platô de 1–3 células mais externas.

No estrato córneo a queratina dura apresenta um padrão mais plano em sua superfície externa e podemos identificar, em certas cristas, o número de células apicais pela formação de interrupções na queratina. Projeções de queratina podem ser formadas ultrapassando os limites laterais das células apicais. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto rugoso.

Na derme estão presentes GNs com apenas um tamanho de grânulo. Medem entre 0,11mm e 0,083mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,01 e 0,015). Presença também de GGs medindo 0,083mm e 0,056mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,005 e 0,005).

A espessura da epiderme tem média de 0,06mm em suas porções mais espessas e 0,03mm nas mais finas (sd = 0,005 e 0,0014). O epitélio 0,206mm em suas porções mais espessas e 0,170mm nas mais finas (sd = 0,03 e 0,02).

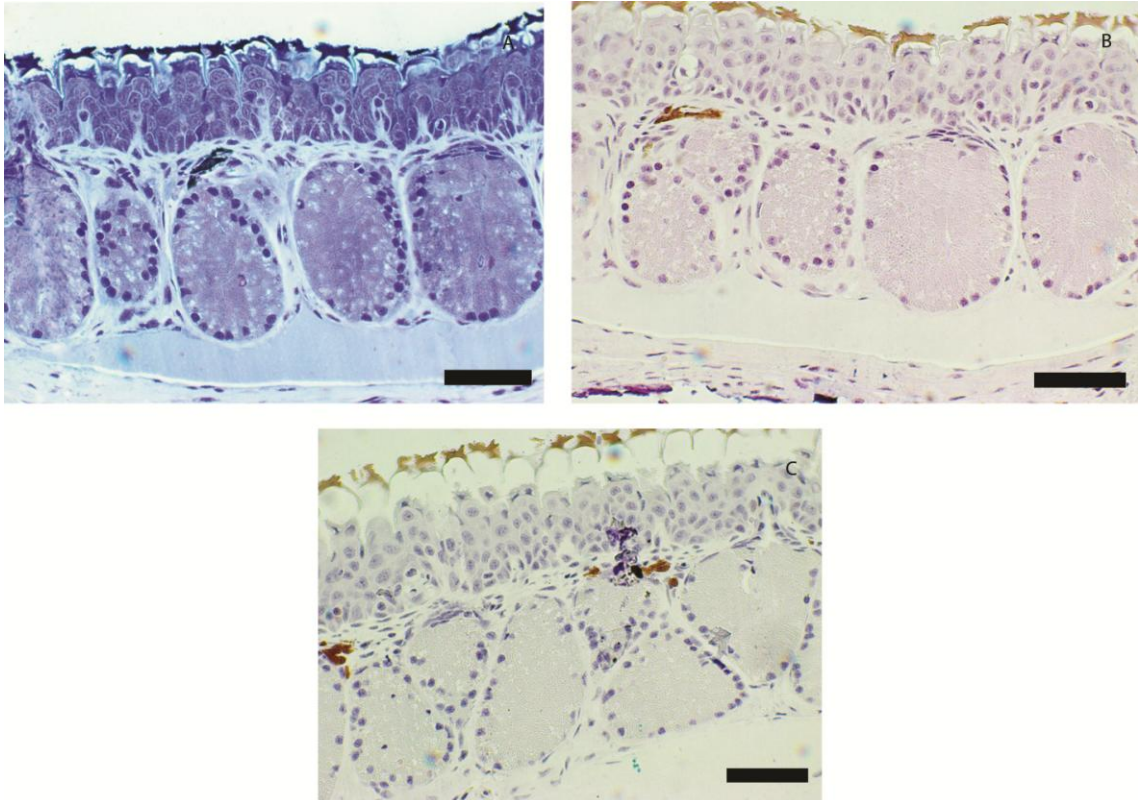


Figura 77. Histologia da calosidade nupcial de *P. albonotatus*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

*P. albifrons* (figura 78): Estrato germinativo com crista possuindo de 6–7 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com várias projeções em diversas direções, geralmente não correspondendo ao número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado, trapézios e quadrados de superfície apical mais plana. A extremidade da queratina apresenta poucas pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto mais uniforme e compacto.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,09mm e 0,086mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,025 e 0,025).



Presença também de GGs medindo 0,075mm e 0,04mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,007 e 0,003).

A espessura da epiderme tem média de 0,09mm em suas porções mais espessas e 0,04mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,0025). O epitélio 0,24mm em suas porções mais espessas e 0,18mm nas mais finas (sd = 0,03 e 0,009).

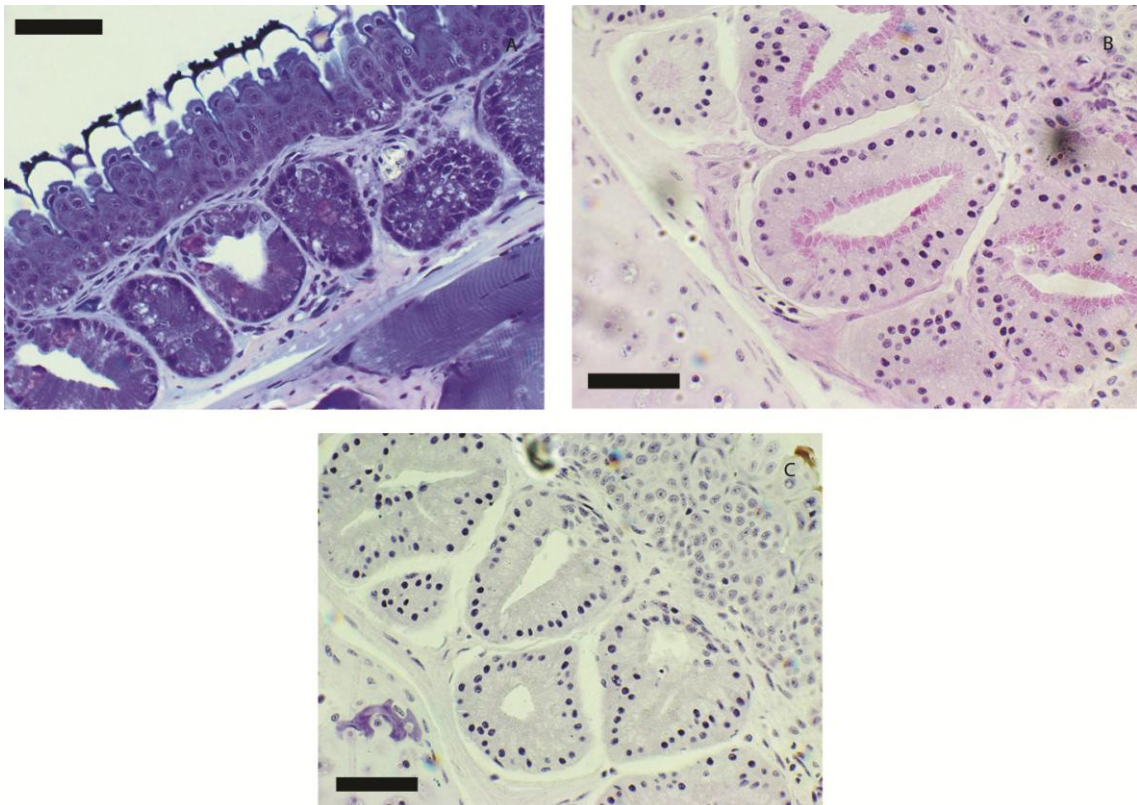


Figura 78. Histologia da calosidade nupcial de *P. albifrons*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

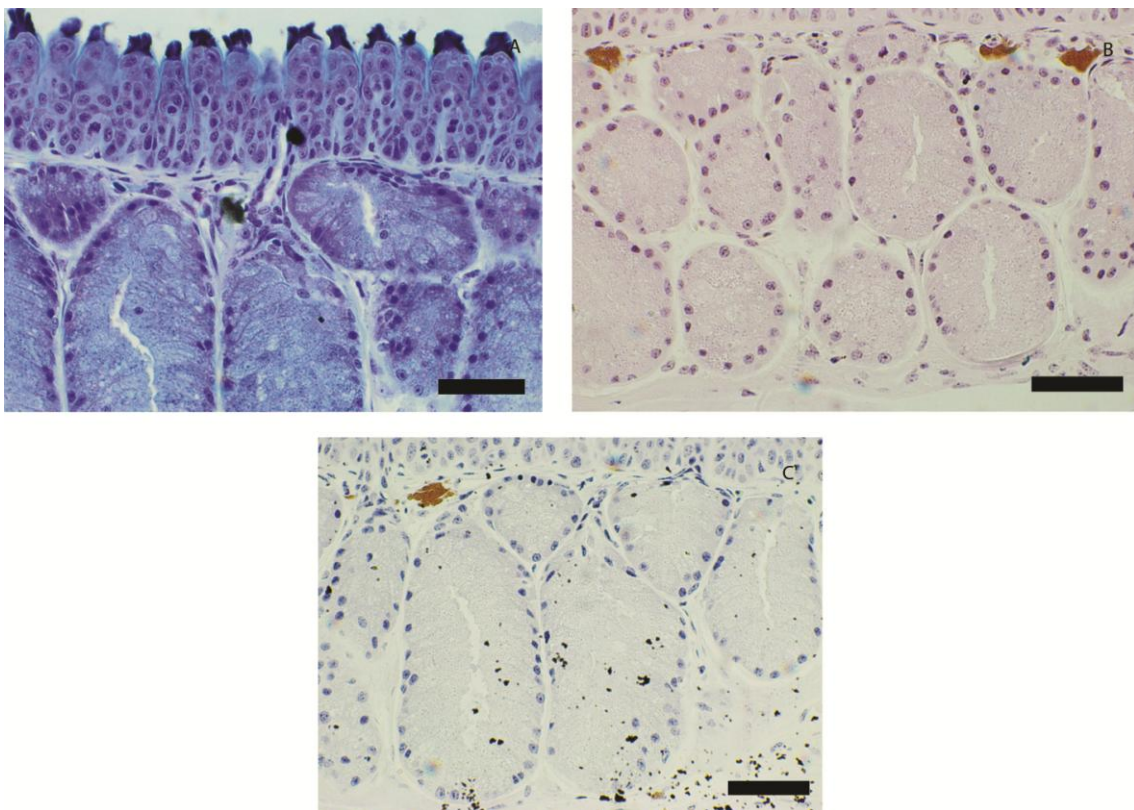
***P. cicada* (sem grupo [figura 79]):** Estrato germinativo com crista possuindo de 5–6 células (4 camadas) com um platô de 1–3 células mais externas.

No estrato córneo a queratina dura apresenta um padrão mais plano em sua superfície externa e podemos identificar, em certas cristas, o número de células apicais pela formação de interrupções na queratina. Projeções de queratina podem ser formadas raramente ultrapassando os limites laterais das células apicais. A extremidade da

queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto rugoso.

Na derme estão presentes GNs com apenas um tamanho de grânulo. Medem entre 0,115mm e 0,087mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,023 e 0,009). Não apresenta GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,08mm em suas porções mais espessas e 0,039mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,0028). O epitélio 0,196mm em suas porções mais espessas e 0,155mm nas mais finas (sd = 0,025 e 0,018).



**Figura 79.** Histologia da calosidade nupcial de *P. cicada*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.



### **Grupo *P. gracilis***

***P. gracilis* (figura 80):** Estrato germinativo com crista possuindo de 6–7 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas, frequentemente vacuolizadas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com várias projeções em diversas direções, geralmente não correspondendo o número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado. Não é possível visualizar interrupções na queratina de uma crista. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de círculos dando aspecto levemente rugoso embora os blocos de queratina sejam compactos.

A derme apresenta GNs com grânulos pequenos e GNs com grânulos grandes. Ambas medindo entre 0,086mm e 0,072mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,012 e 0,008).

A espessura da epiderme tem média de 0,082mm em suas porções mais espessas e 0,056mm nas mais finas (sd = 0,007 e 0,02). O epitélio 0,25mm em suas porções mais espessas e 0,17mm nas mais finas (sd = 0,03 e 0,04).

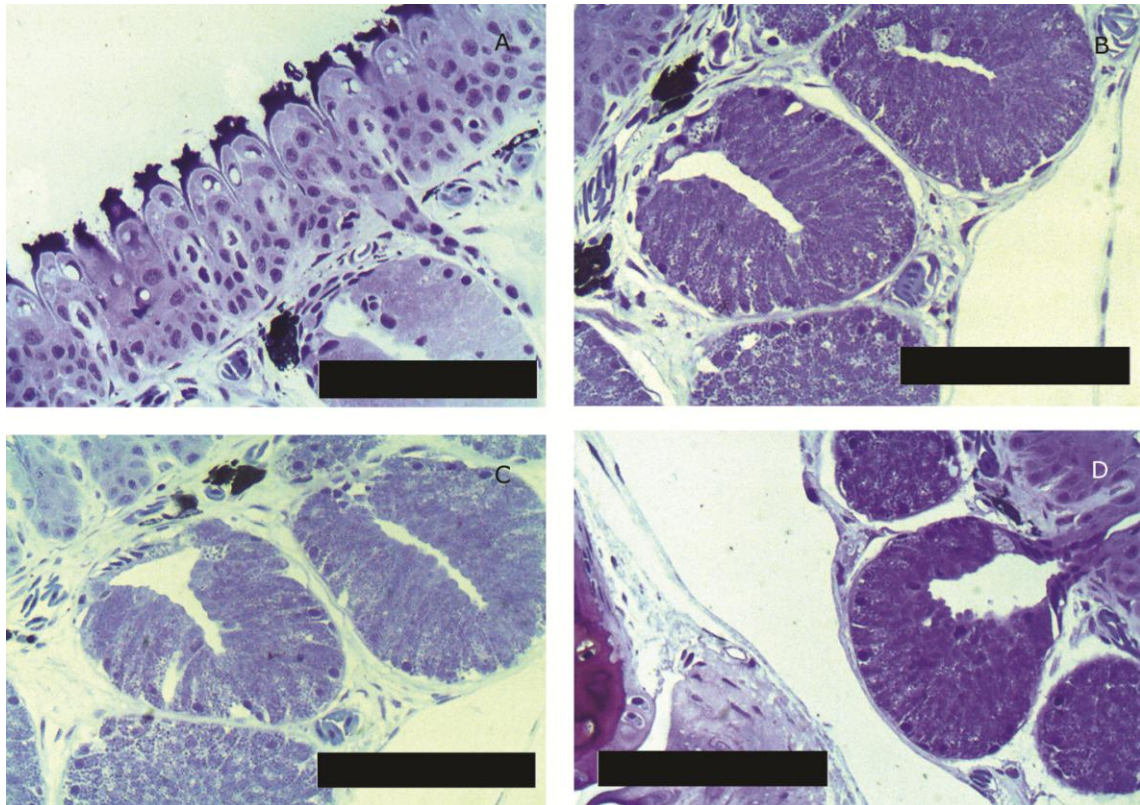


Figura 80. Histologia da calosidade nupcial de *P. gracilis*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS. (C) GN corada com AB pH 2.5. (D) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C e D feita com azul de toluidina. Escalas de 12.5µm.

***P. evangelistai* (figura 81):** Estrato germinativo com crista possuindo de 5–7 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas, frequentemente vacuolizadas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com várias projeções em diversas direções, geralmente não correspondendo o número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado. Não é possível visualizar interrupções na queratina de uma crista. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto levemente rugoso embora os blocos de queratina sejam compactos.

A derme apresenta GNs com dois tipos de grânulo. Medem entre 0,11mm e 0,086mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,015 e 0,005).

Presença também de GGs medindo 0,08mm e 0,05mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,028 e 0,001).

A espessura da epiderme tem média de 0,09mm em suas porções mais espessas e 0,038mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,0062). O epitélio 0,22mm em suas porções mais espessas e 0,17mm nas mais finas (sd = 0,049 e 0,045).

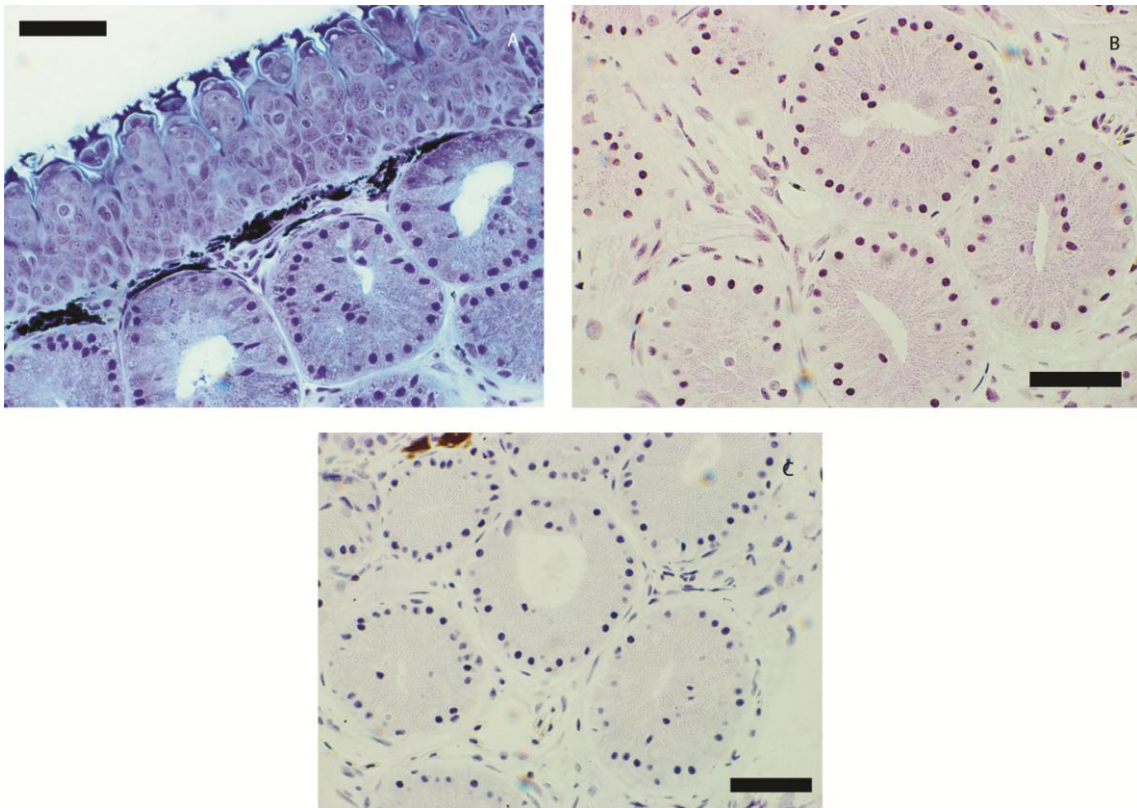


Figura 81. Histologia da calosidade nupcial de *P. evangelistai*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

*P. lisei* (figura 82): Estrato germinativo com crista possuindo de 5–6 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas, frequentemente vacuolizadas.

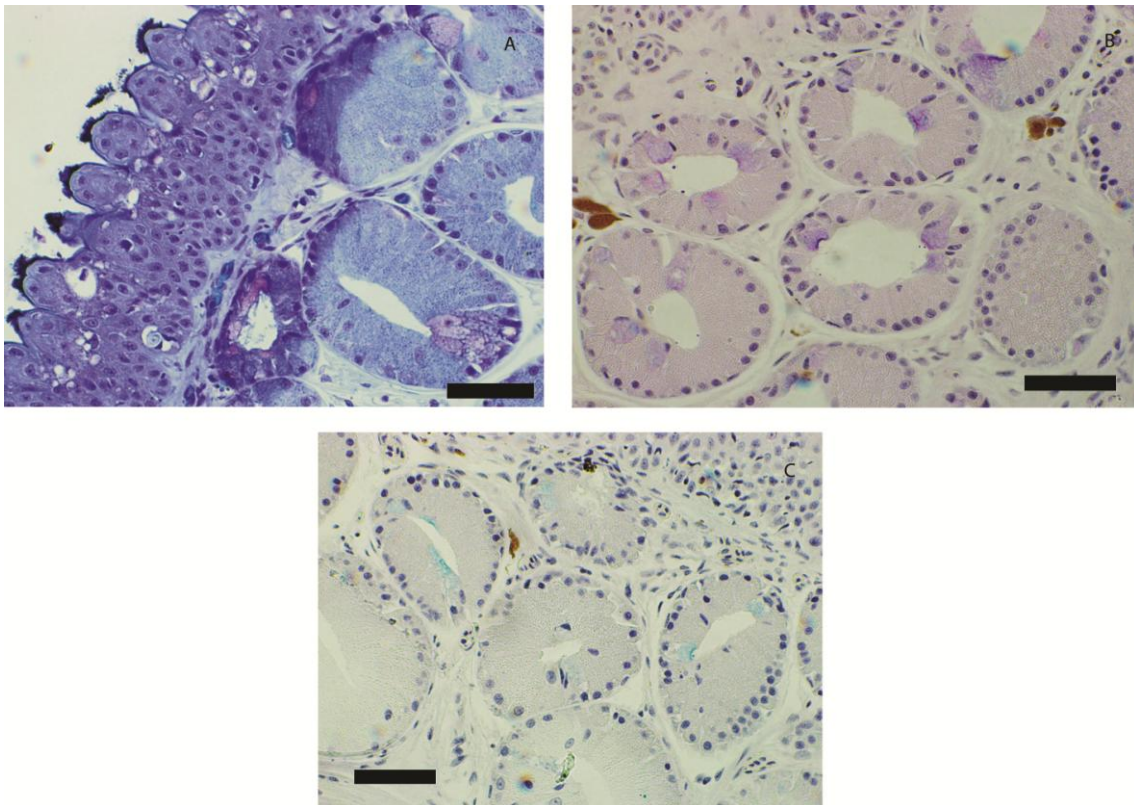
O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com várias projeções em diversas direções, geralmente não correspondendo o número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado. Não é possível visualizar



interrupções na queratina de uma crista. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto levemente rugoso embora os blocos de queratina sejam compactos.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,12mm e 0,103mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,025 e 0,011). Não apresenta GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,103mm em suas porções mais espessas e 0,038mm nas mais finas (sd = 0,015 e 0,0076). O epitélio 0,22mm em suas porções mais espessas e 0,16mm nas mais finas (sd = 0,040 e 0,032).



**Figura 82. Histologia da calosidade nupcial de *P. lisei*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.**

### **Grupo *P. olfersii***

***P. olfersii* (figura 83):** Estrato germinativo com crista possuindo de 6–7 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com várias projeções em diversas direções, geralmente correspondendo ao número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado, trapézios e quadrados de superfície apical mais plana. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto bastante rugoso e particulado na parte apical, embora os blocos de queratina sejam compactos na porção basal.

A derme apresenta GNs com grânulos pequenos e GNs com grânulos grandes. Ambas medindo entre 0,110mm e 0,084mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,04 e 0,03). Presença também de GGs medindo 0,116mm e 0,067mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,024 e 0,025).

A espessura da epiderme tem média de 0,094mm em suas porções mais espessas e 0,069mm nas mais finas (sd = 0,001 e 0,01). O epitélio 0,36mm em suas porções mais espessas e 0,22mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,02).



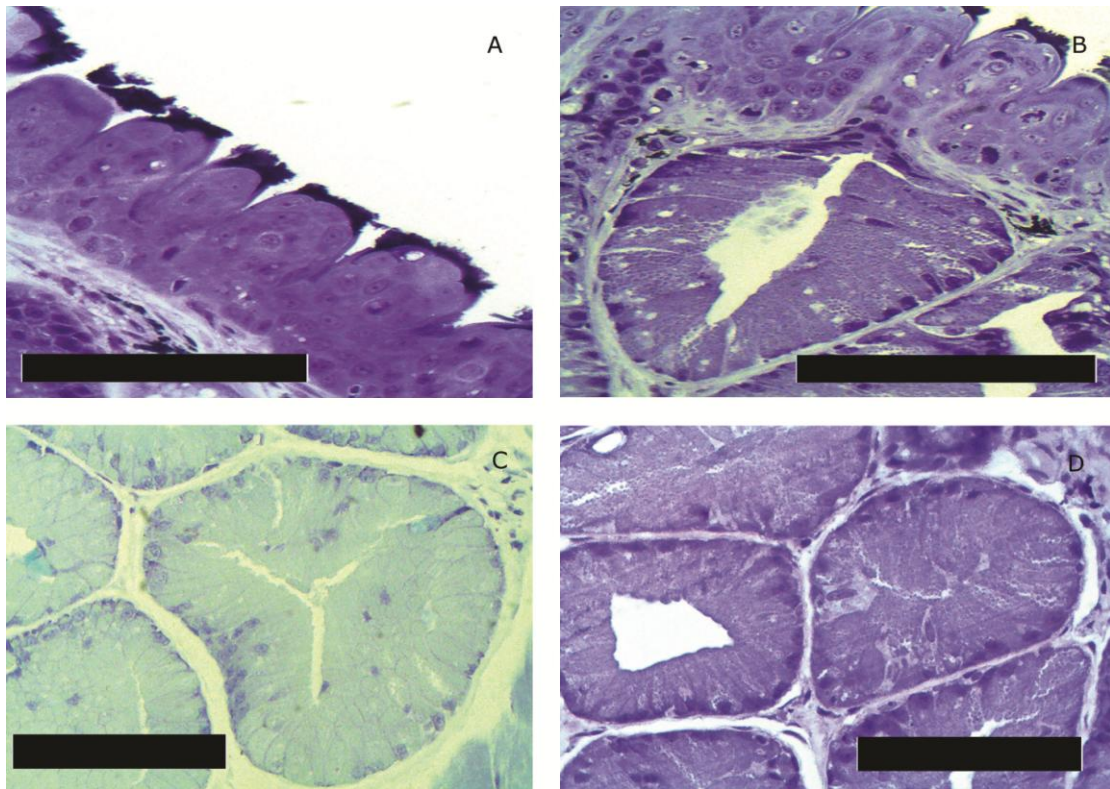


Figura 83. Histologia da calosidade nupcial de *P. olfersii*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS. (C) GN corada com AB pH 2.5. (D) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C e D feita com azul de toluidina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

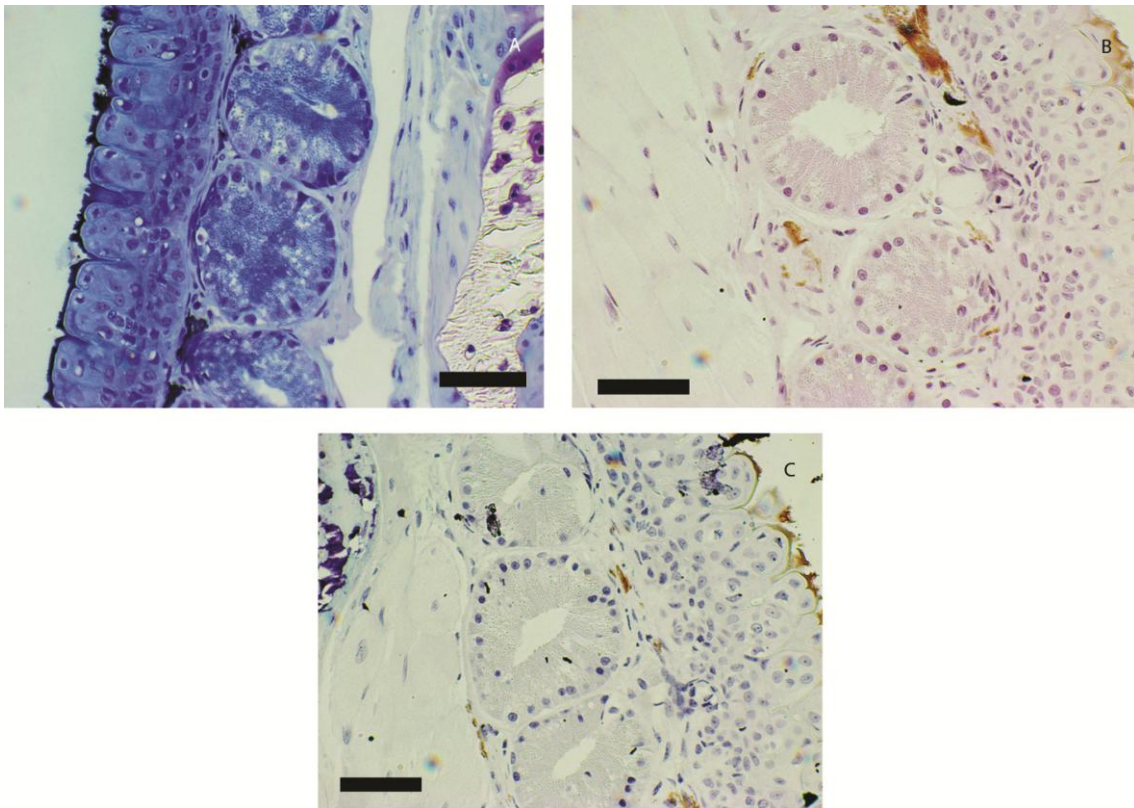
*P. feioi* (figura 84): Estrato germinativo com crista possuindo de 5–7 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com várias projeções em diversas direções, geralmente correspondendo ao número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado, trapézios e quadrados de superfície apical mais plana. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto bastante rugoso na parte apical, embora os blocos de queratina sejam compactos na porção basal.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,86mm e 0,086mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,011 e 0,005).

Presença também de GGs medindo 0,06mm e 0,03mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,02 e 0,004).

A espessura da epiderme tem média de 0,07mm em suas porções mais espessas e 0,031mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,0052). O epitélio 0,19mm em suas porções mais espessas e 0,15mm nas mais finas (sd = 0,032 e 0,027).



**Figura 84.** Histologia da calosidade nupcial de *P. feioi*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

*P. lateristriga* (figura 85): Estrato germinativo com crista possuindo de 4–6 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com várias projeções em diversas direções, geralmente não correspondendo ao número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado, trapézios e quadrados de

superfície apical mais plana. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto bastante rugoso na parte apical, embora os blocos de queratina sejam compactos na porção basal.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,12mm e 0,11mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,017 e 0,01). Presença também de GGs medindo 0,1mm e 0,09mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,015 e 0,011).

A espessura da epiderme tem média de 0,086mm em suas porções mais espessas e 0,035mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,0076). O epitélio 0,19mm em suas porções mais espessas e 0,14mm nas mais finas (sd = 0,021 e 0,008).

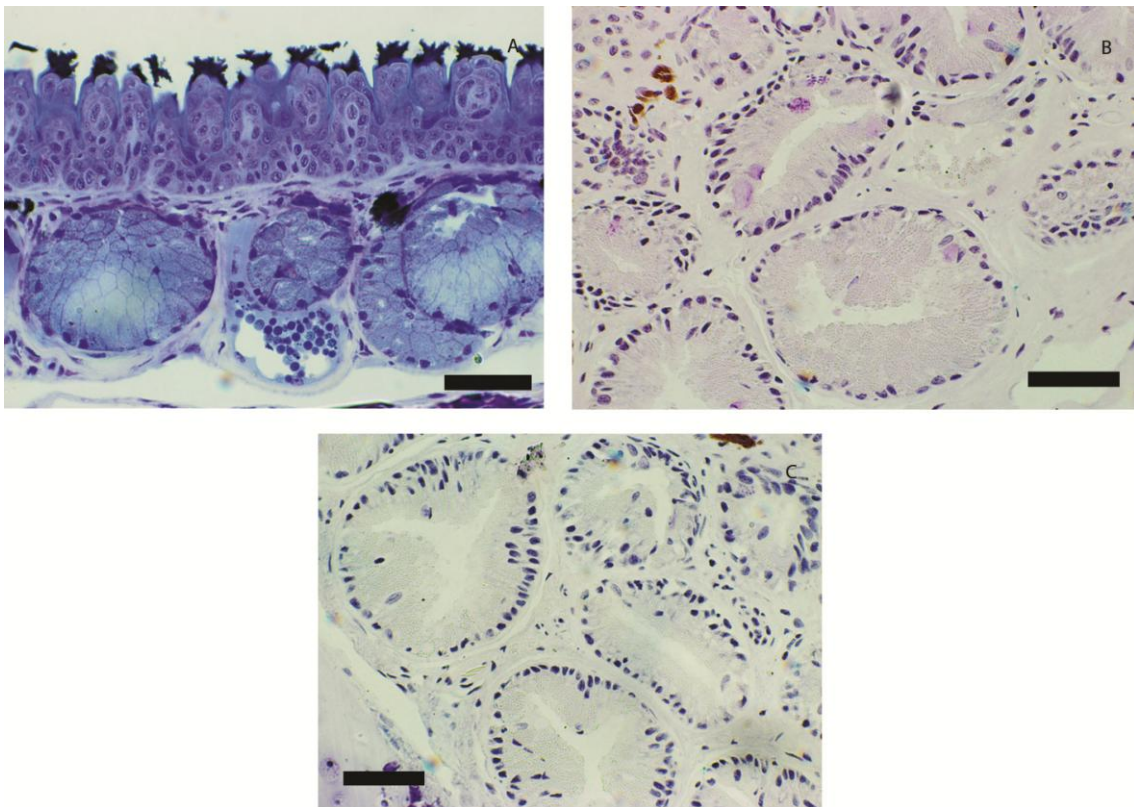


Figura 85. Histologia da calosidade nupcial de *P. lateristriga*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

***P. maximus* (figura 86):** Estrato germinativo com crista possuindo de 8–10 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com várias projeções em diversas direções, geralmente não correspondendo ao número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado, trapézios e quadrados de superfície apical mais plana. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto bastante rugoso na parte apical, embora os blocos de queratina sejam compactos na porção basal.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,13mm e 0,12mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,023 e 0,017). Presença também de GGs medindo 0,11mm e 0,066mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,03 e 0,025).

A espessura da epiderme tem média de 0,1mm em suas porções mais espessas e 0,036mm nas mais finas (sd = 0,015 e 0,011). O epitélio 0,22mm em suas porções mais espessas e 0,15mm nas mais finas (sd = 0,03 e 0,026).



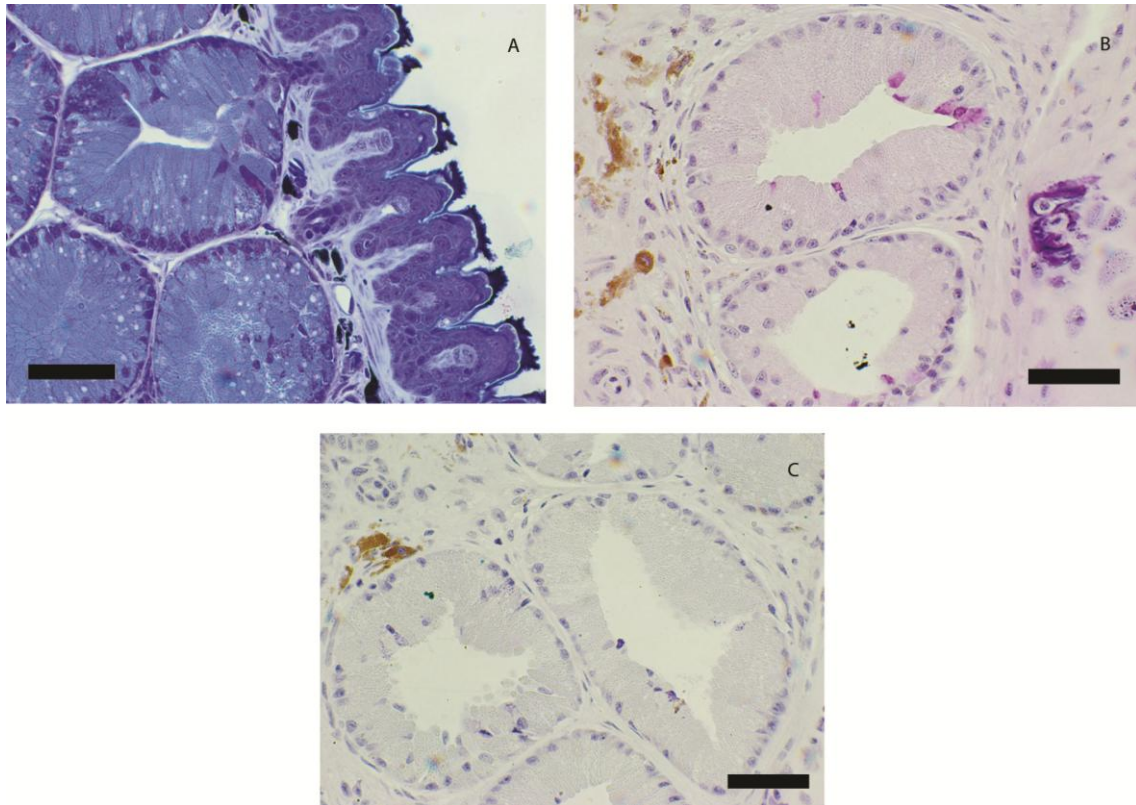


Figura 86. Histologia da calosidade nupcial de *P. maximus*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

### Grupo *P. biligonigerus*

*P. biligonigerus* (figura 87): Estrato germinativo com crista possuindo de 5–7 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com poucas projeções, que quando presentes se projetam em diversas direções, geralmente não correspondendo ao número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado, trapézios e quadrados de superfície apical mais plana. A extremidade da queratina apresenta poucas pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto mais uniforme e compacto.



A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,10mm e 0,09mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,03 e 0,03). Não apresenta GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,1mm em suas porções mais espessas e 0,03mm nas mais finas (sd = 0,015 e 0,006). O epitélio 0,2mm em suas porções mais espessas e 0,12mm nas mais finas (sd = 0,03 e 0,027).

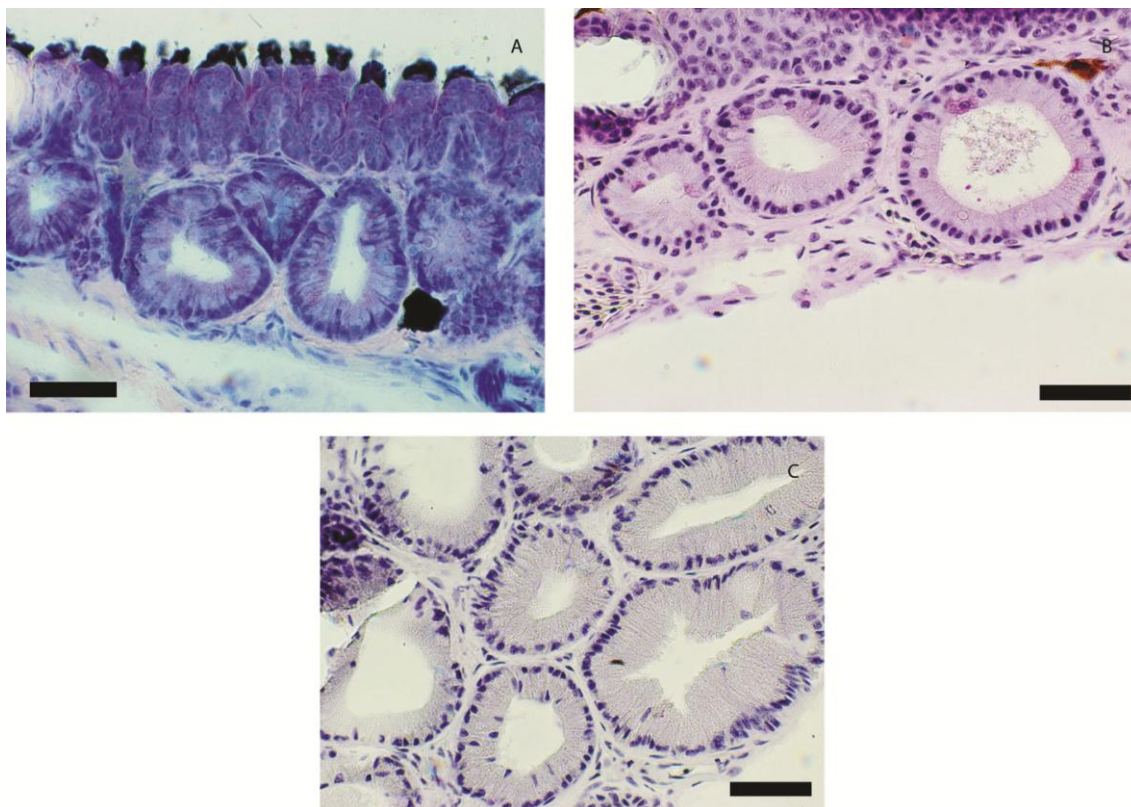


Figura 87. Histologia da calosidade nupcial de *P. biligonigerus*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

*P. marmoratus* (figura 88): Estrato germinativo com crista possuindo de 5–6 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com várias projeções em diversas direções, geralmente não correspondendo ao número de células apicais. Essas projeções

geralmente são em forma de cone com cume arredondado, trapézios e quadrados de superfície apical mais plana. A extremidade da queratina apresenta poucas pequenas ornamentações em forma de grânulos dando aspecto mais uniforme e compacto.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,11mm e 0,10mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,015 e 0,015). Presença também de GGs medindo 0,11mm e 0,07mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,001 e 0,005).

A espessura da epiderme tem média de 0,08mm em suas porções mais espessas e 0,036mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,001). O epitélio 0,22mm em suas porções mais espessas e 0,17mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,011).

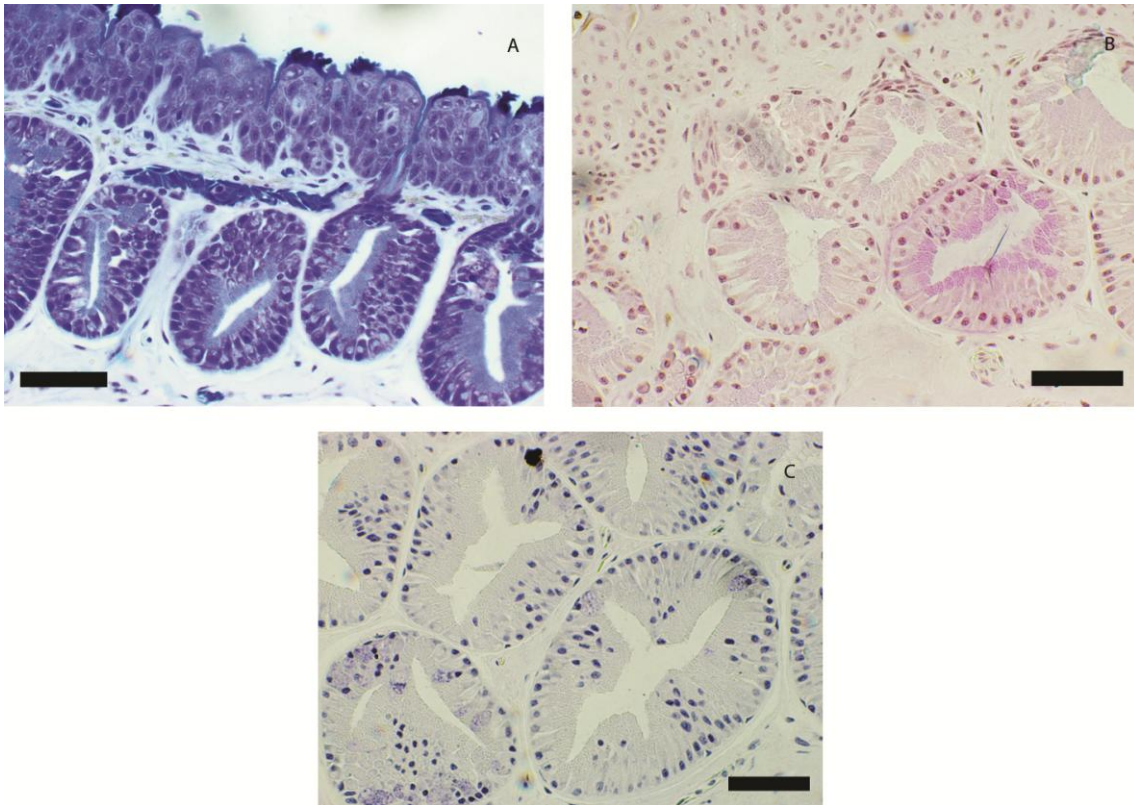


Figura 88. Histologia da calosidade nupcial de *P. marmoratus*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

#### 4.3.2.1 Clado *P. signifer*

***P. nattereri* (figura 89):** Estrato germinativo com crista possuindo de 9 células (4 camadas) arranjas de maneira em que uma delas é mais externa que as demais formando um ápice.

O estrato córneo apresenta uma superfície mais tortuosa devido à organização da queratina nas cristas onde uma série de ondulações são formadas apresentando um pico máximo. Cada célula apical produtora de queratina produz um bloco de queratina dura que pode ser visualizado facilmente por suas interrupções. Os blocos possuem projeções em forma de círculo ou cones de cume arredondado. Além disso, não há formação de espículas e os blocos de queratina são mais compactos.

Na derme estão presentes GNs com dois tamanhos de grânulos. Medem entre 0,121mm e 0,096mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,02 e 0,015). Presença também de GGs medindo 0,12mm e 0,83mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,015 e 0,018).

A espessura da epiderme tem média de 0,096mm em suas porções mais espessas e 0,08mm nas mais finas (sd = 0,005 e 0,007). O epitélio 0,43mm em suas porções mais espessas e 0,21mm nas mais finas (sd = 0,015 e 0,025).



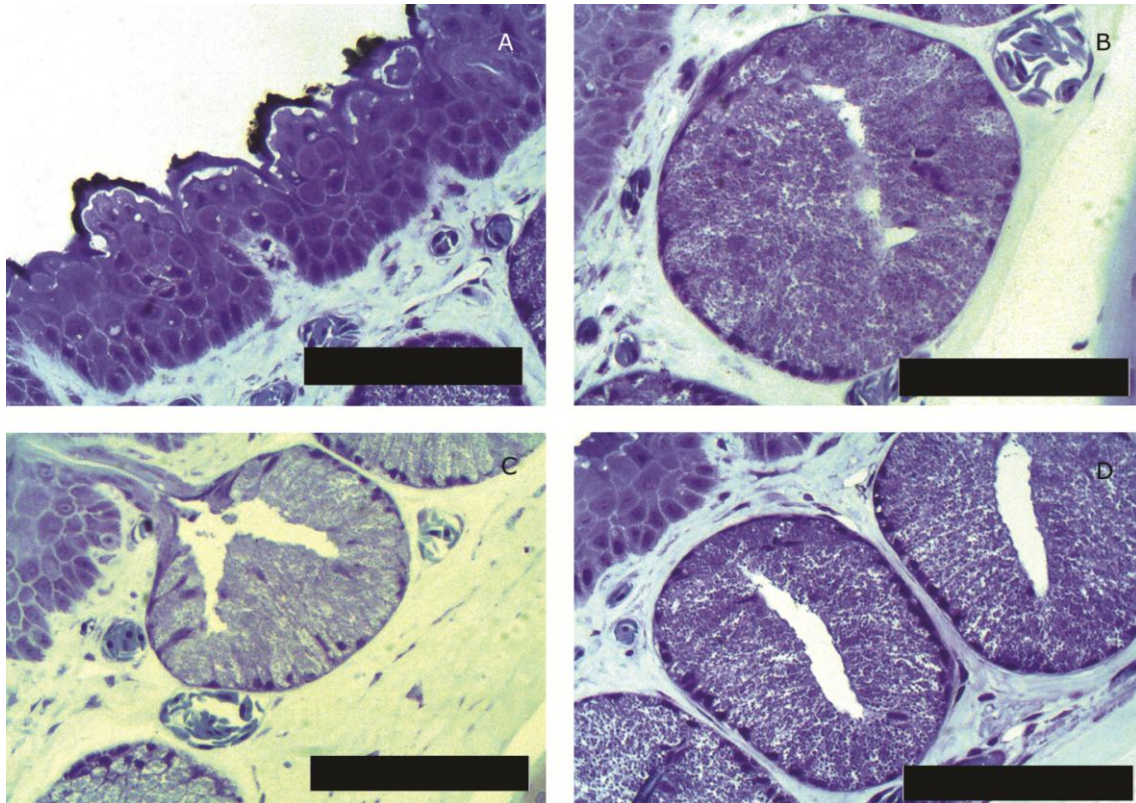


Figura 89. Histologia da calosidade nupcial de *P. nattereri*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS. (C) GN corada com AB pH 2.5. (D) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C e D feita com azul de toluidina. Escalas de 12.5µm.

***P. crombiei* (figura 90):** Estrato germinativo com crista possuindo de 3–5 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície mais plana. Em cada ápice de crista, forma-se um platô plano que pode apresentar projeções laterais que ultrapassam os limites das células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado. Não é possível visualizar interrupções na queratina de uma crista. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de círculos dando aspecto levemente rugoso embora os blocos de queratina sejam compactos.

A derme apresenta GNs com apenas um tamanho de grânulos e GNs com dois tamanhos de grânulos. Ambas medindo entre 0,102mm e 0,084mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,017 e 0,015). Presença também de GGs medindo

0,077mm e 0,039mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,044 e 0,015).

A espessura da epiderme tem média de 0,089mm em suas porções mais espessas e 0,074mm nas mais finas (sd = 0,003 e 0,003). O epitélio 0,25mm em suas porções mais espessas e 0,16mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,03).

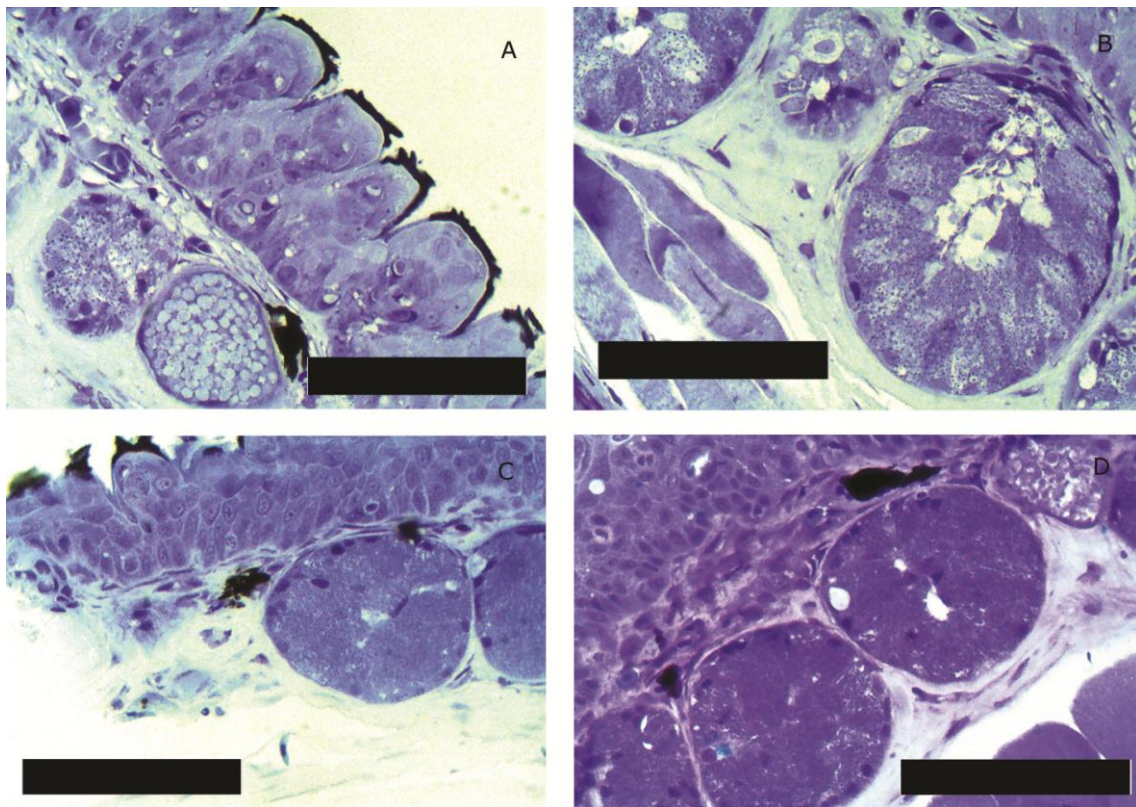


Figura 90. Histologia da calosidade nupcial de *P. crombiei*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS. (C) GN corada com AB pH 2.5. (D) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C e D feita com azul de toluidina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

*P. moreirae* (figura 91): Estrato germinativo com crista possuindo de 5–7 células (4 camadas) com um platô de 1–3 células mais externas.

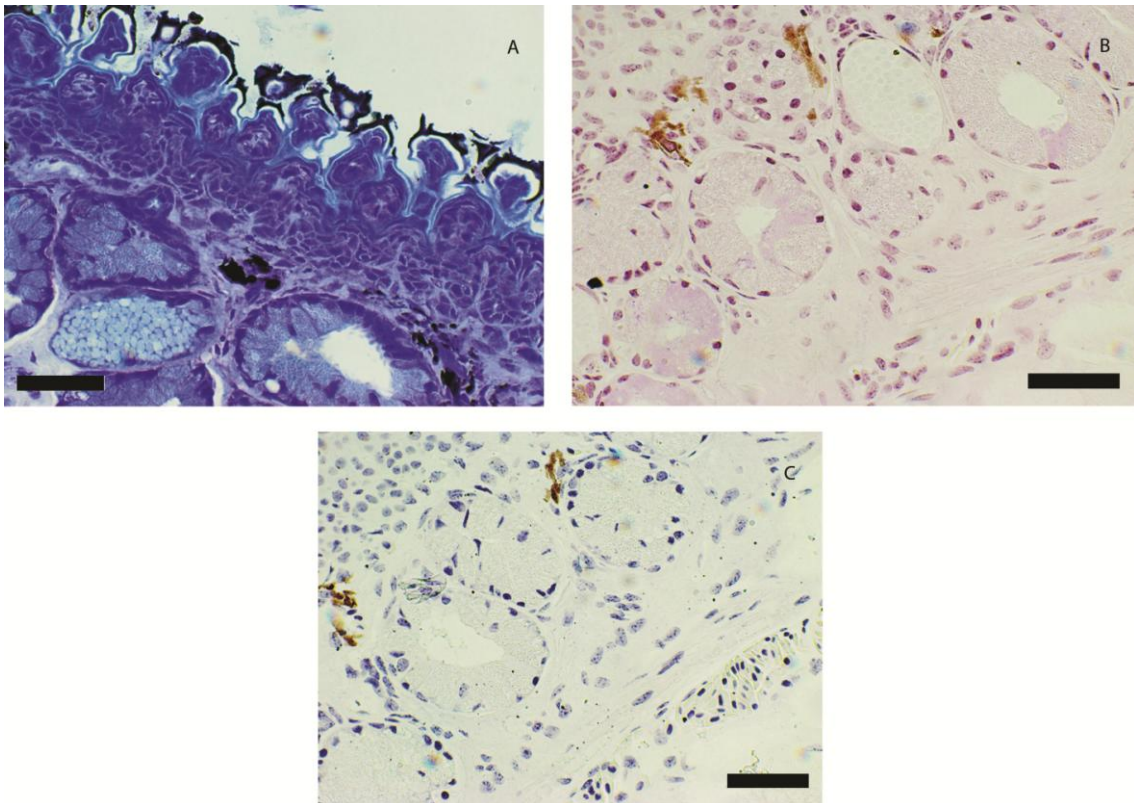
No estrato córneo a queratina dura apresenta um padrão mais plano em sua superfície externa e podemos identificar, em certas cristas, o número de células apicais pela formação de interrupções na queratina. Projeções de queratina podem ser formadas raramente ultrapassando os limites laterais das células apicais. A extremidade da



queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de espículas dando aspecto rugoso.

Na derme estão presentes GNs com apenas um tamanho de grânulo. Medem entre 0,12mm e 0,08mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,02 e 0,01). Presença também de GGs medindo 0,086mm e 0,06mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,015 e 0,01).

A espessura da epiderme tem média de 0,1mm em suas porções mais espessas e 0,032mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,005). O epitélio 0,23mm em suas porções mais espessas e 0,16mm nas mais finas (sd = 0,030 e 0,035).



**Figura 91. Histologia da calosidade nupcial de *P.moreirae*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.**

***P. signifer* (figura 92):** Estrato germinativo com crista possuindo de 5–9 células (4 camadas) com um platô de 1–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície mais plana. Em cada ápice de crista, forma-se um platô plano que pode apresentar projeções laterais que ultrapassam os limites das células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado. Não é possível visualizar interrupções na queratina de uma crista. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de círculos dando aspecto levemente rugoso embora os blocos de queratina sejam compactos.

Na derme estão presentes GNs com apenas um tamanho de grânulo. Medem entre 0,086mm e 0,06mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,005 e 0,001). Presença também de GGs medindo 0,13mm e 0,1mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,002 e 0,007).

A espessura da epiderme tem média de 0,073mm em suas porções mais espessas e 0,03mm nas mais finas (sd = 0,0057 e 0,0075). O epitélio 0,25mm em suas porções mais espessas e 0,21mm nas mais finas (sd = 0,020 e 0,022).

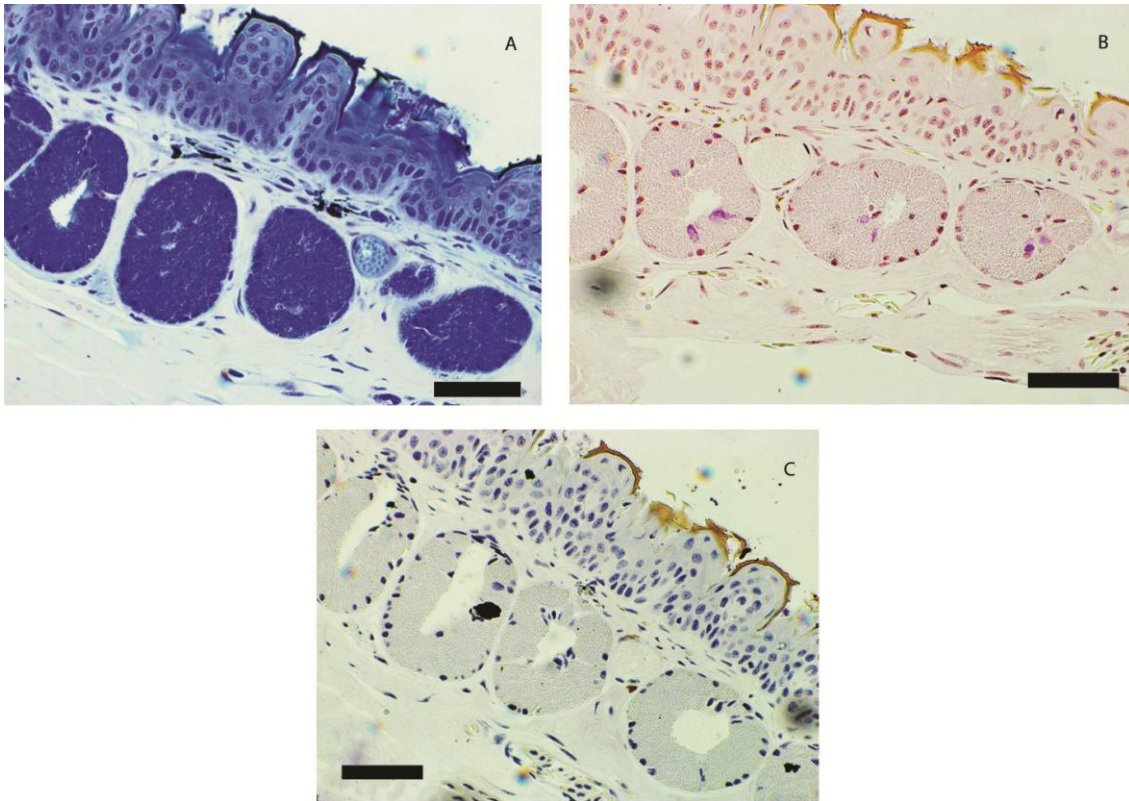


Figura 92. Histologia da calosidade nupcial de *P. signifer*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

***P. nanus* (figura 93):** Estrato germinativo com crista possuindo de 6–9 células (4 camadas) com um platô de 1–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície mais plana. Em cada ápice de crista, forma-se um platô plano que apresenta projeções, mas que não ultrapassam os limites das células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado ou afilado. Não é possível visualizar interrupções na queratina de uma crista. A extremidade da queratina apresenta pequenas ornamentações em forma de círculos dando aspecto levemente rugoso embora os blocos de queratina sejam compactos.

Na derme estão presentes GNs com apenas um tamanho de grânulo. Medem entre 0,103mm e 0,08mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,02 e 0,01). Não apresenta GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,073mm em suas porções mais espessas e 0,029mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,005). O epitélio 0,26mm em suas porções mais espessas e 0,21mm nas mais finas (sd = 0,037 e 0,035).

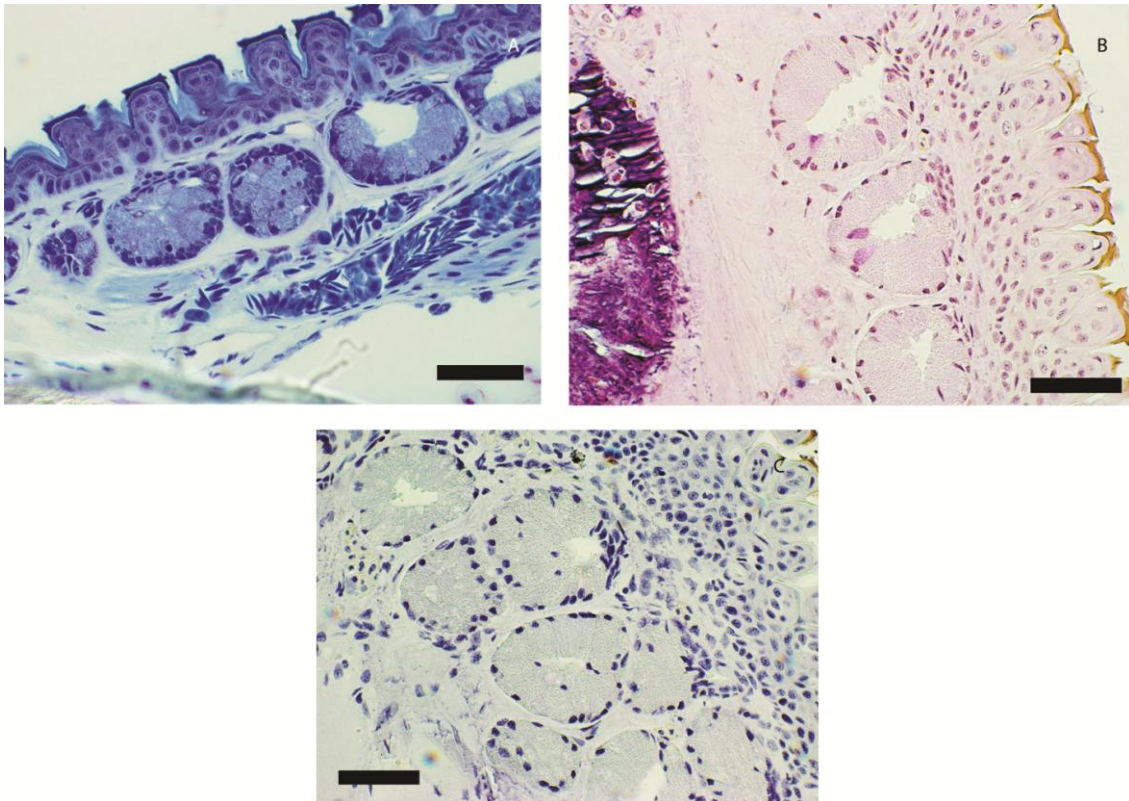


Figura 93. Histologia da calosidade nupcial de *P. nanus*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

### Grupo *P. deimaticus*

*P. deimaticus* (figura 94): Estrato germinativo com crista possuindo de 6–9 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.



O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com poucas projeções que não correspondendo ao número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado e se projetam lateralmente permanecendo o ápice plano. A extremidade da queratina apresenta poucas pequenas ornamentações em forma granulos dando aspecto bastante rugoso na parte apical, embora os blocos de queratina sejam compactos na porção basal.

A derme apresenta GNs com dois tipos de grânulo. Medem entre 0,11mm e 0,10mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,02 e 0,01). Não apresenta GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,09mm em suas porções mais espessas e 0,03mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,0062). O epitélio 0,28mm em suas porções mais espessas e 0,22mm nas mais finas (sd = 0,03 e 0,02).

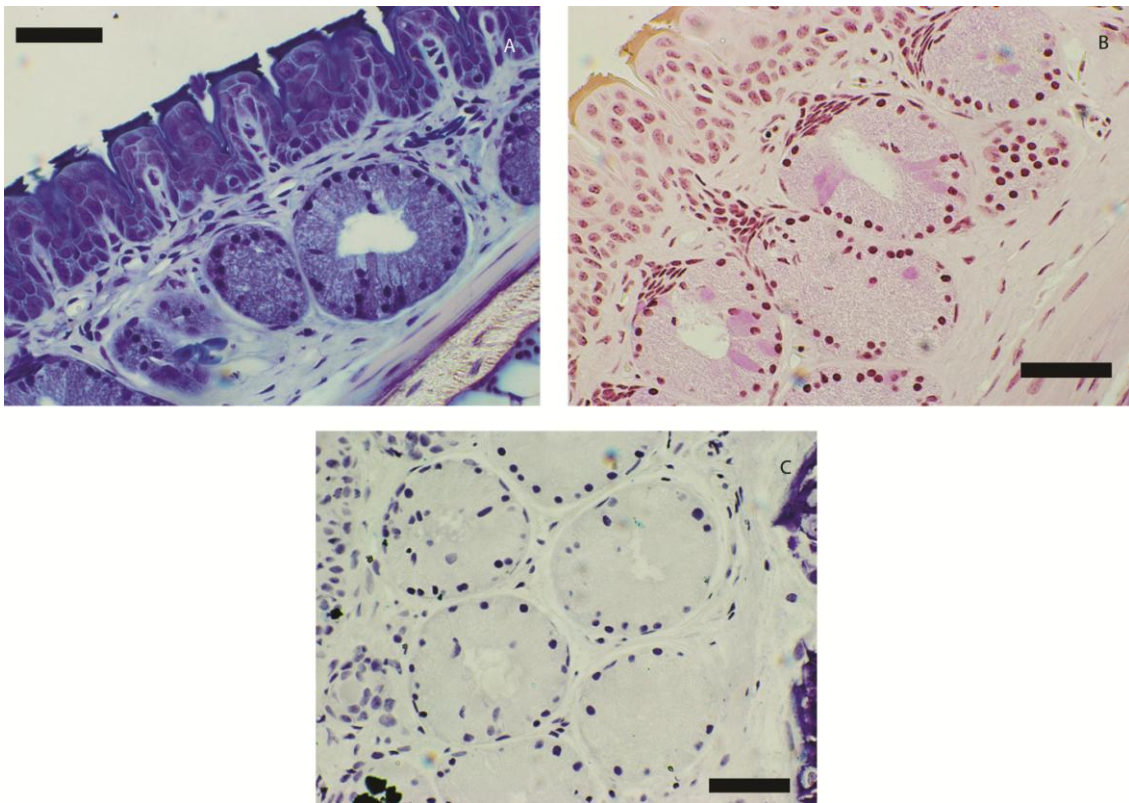


Figura 94. Histologia da calosidade nupcial de *P. deimaticus*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.



***P. rupestris* (figura 95):** Estrato germinativo com crista possuindo de 5–6 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se uma camada fina de queratina com poucas projeções que não correspondem ao número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado e se projetam lateralmente permanecendo o ápice plano. A extremidade da queratina apresenta poucas pequenas ornamentações em forma granulos dando aspecto pouco rugoso na parte apical.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,076mm e 0,07mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,011 e 0,01). Presença também de GGs medindo 0,085mm e 0,04mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,02 e 0,01).

A espessura da epiderme tem média de 0,073mm em suas porções mais espessas e 0,038mm nas mais finas (sd = 0,015 e 0,003). O epitélio 0,18mm em suas porções mais espessas e 0,15mm nas mais finas (sd = 0,03 e 0,02).

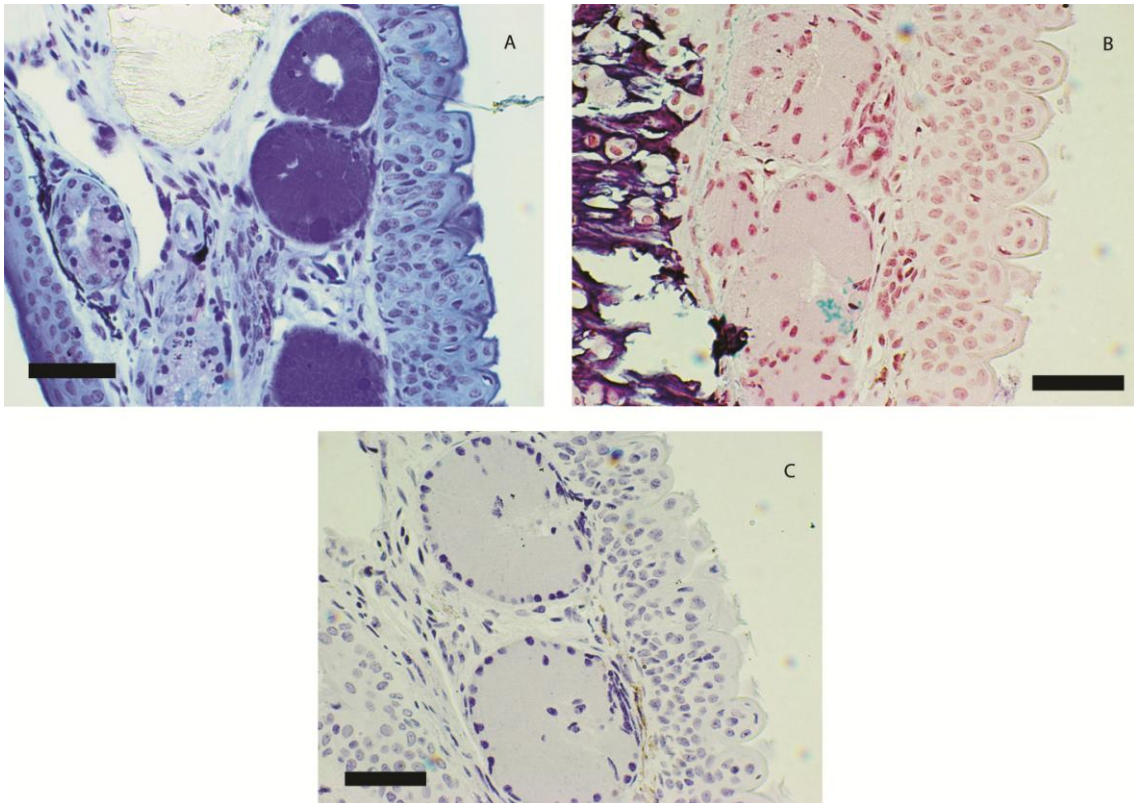


Figura 95. Histologia da calosidade nupcial de *P. rupestris*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

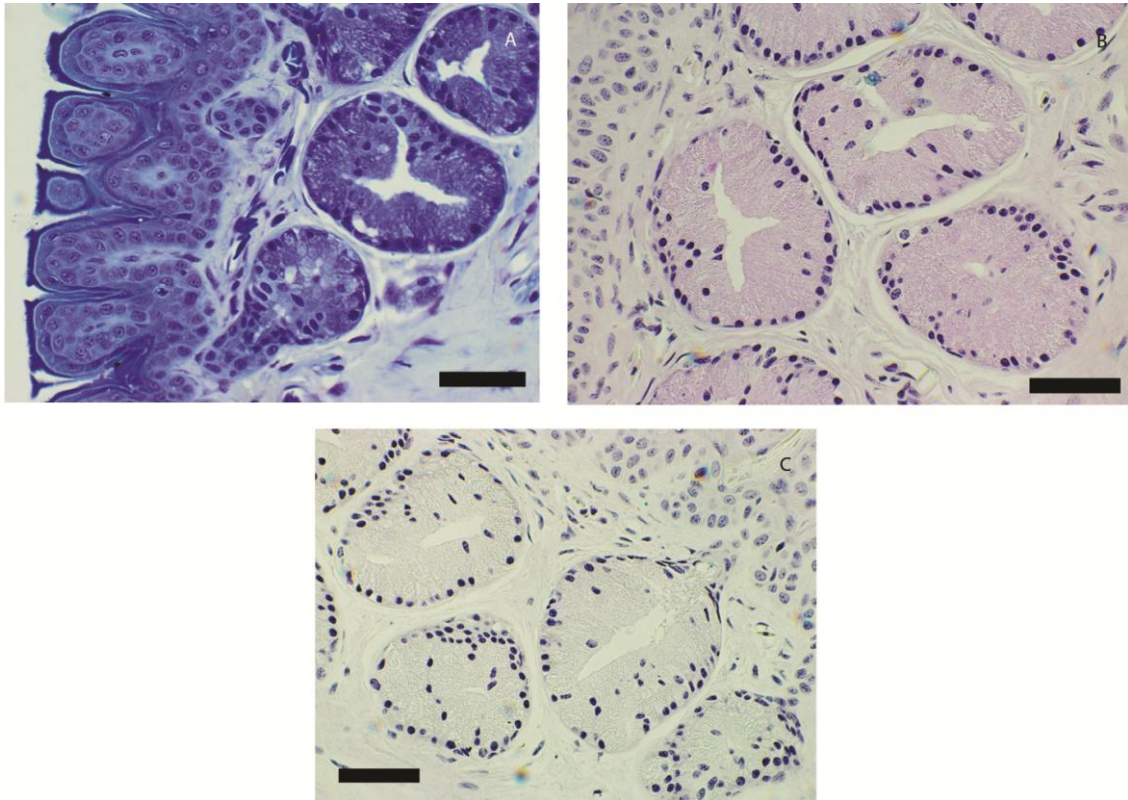
***P. erythros* (figura 96):** Estrato germinativo com crista possuindo de 4–7 células (4 camadas) com um platô de 2–3 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície plana de um modo geral. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com poucas projeções que não correspondem ao número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado e se projetam lateralmente permanecendo o ápice plano. A extremidade da queratina apresenta muitas pequenas ornamentações em forma grânulos ou espículas dando aspecto bastante rugoso na parte apical, embora os blocos de queratina sejam compactos na porção basal.

A derme apresenta GNs com dois tipos de grânulo. Medem entre 0,11mm e 0,10mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,015 e 0,015). Presença

também de GGs medindo 0,11mm e 0,07mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,001 e 0,005).

A espessura da epiderme tem média de 0,08mm em suas porções mais espessas e 0,036mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,001). O epitélio 0,25mm em suas porções mais espessas e 0,19mm nas mais finas (sd = 0,04 e 0,03).



**Figura 96.** Histologia da calosidade nupcial de *P. erythros*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

### 4.3.3 *Pseudopaludicola*

*P. serrana* (figura 97): Estrato germinativo com crista possuindo de 7–8 células (4 camadas) com um platô de 1–2 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com numerosas pequenas projeções não refletindo o número de células apicais. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado. A extremidade da queratina não apresenta ornamentações, entretanto tem aspecto rugoso ocasionado pelas projeções. Os blocos de queratina são compactos.

A derme apresenta GNs com grânulos pequenos e GNs com grânulos grandes. Ambas medindo entre 0,102mm e 0,084mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,021 e 0,019).

A espessura da epiderme tem média de 0,095mm em suas porções mais espessas e 0,07mm nas mais finas (sd = 0,007 e 0,006). O epitélio 0,3mm em suas porções mais espessas e 0,21mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,04).



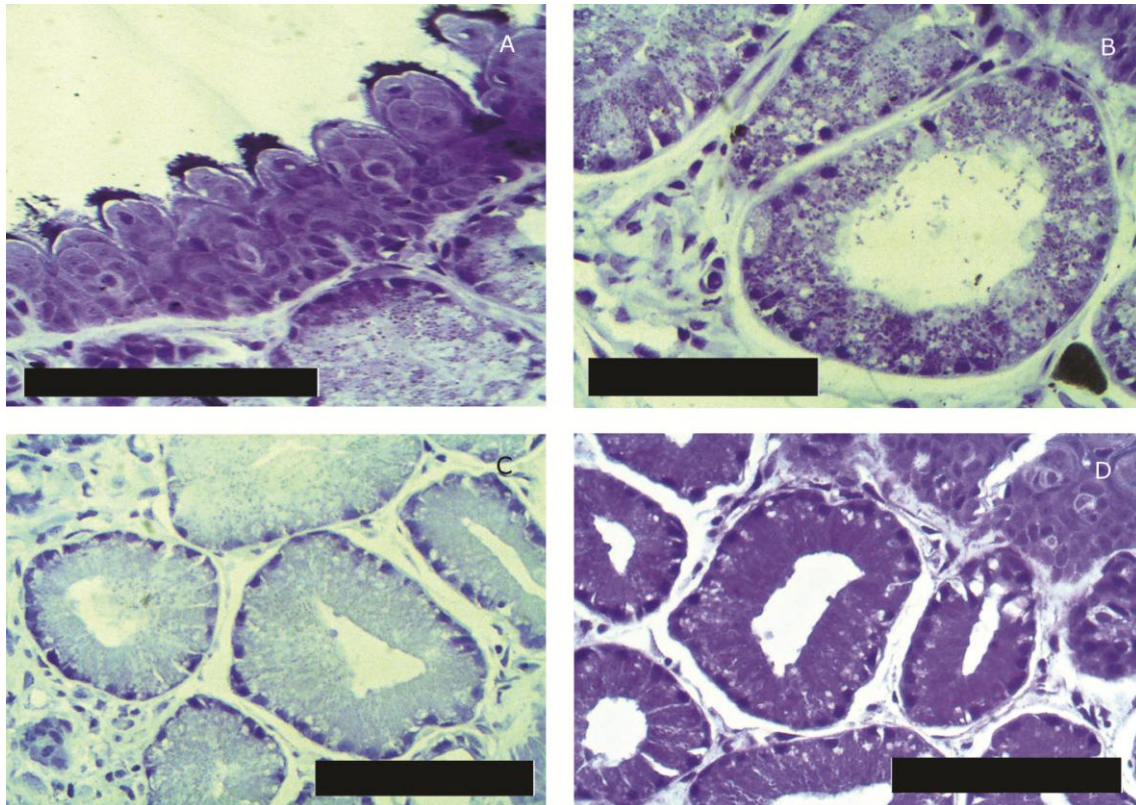


Figura 97. Histologia da calosidade nupcial de *P. serrana*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS. (C) GN corada com AB pH 2.5. (D) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C e D feita com azul de toluidina. Escalas de 12.5µm.

***P. mystacalis* (figura 98):** Estrato germinativo com crista possuindo de 5–6 células (4 camadas) com um platô de 1–2 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com grandes projeções, geralmente uma, mantendo a forma da crista como um grande cone. Projeções circulares também podem ser encontradas. Além dessas, várias outras projeções menores, similares a de *P. serrana*, se fazem presentes. Elas possuem forma de cone com ápice afilado dando aspecto rugoso à extremidade da queratina. Os blocos de queratina são compactos.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo, entretanto, em várias delas eles não foram preservados. Elas medem entre 0,086mm e 0,068mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,014 e 0,014).



A espessura da epiderme tem média de 0,065mm em suas porções mais espessas e 0,051mm nas mais finas (sd = 0,004 e 0,005). O epitélio 0,19mm em suas porções mais espessas e 0,13mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,02).

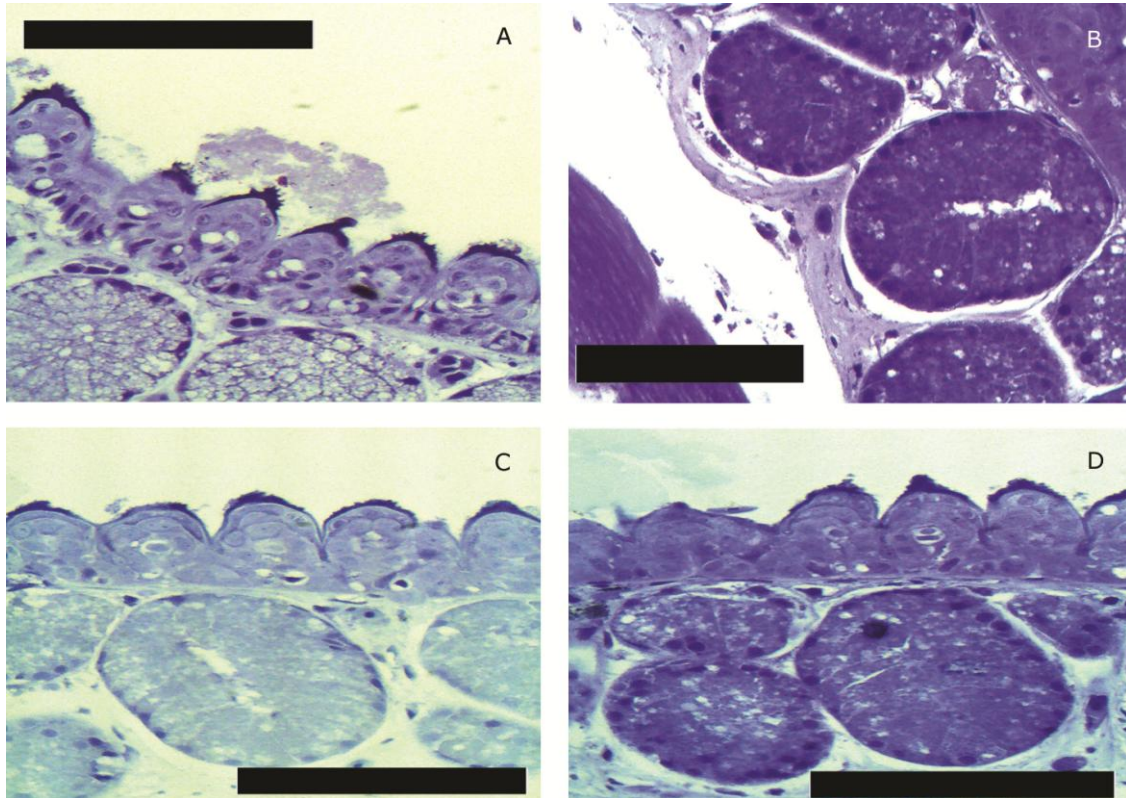


Figura 98. Histologia da calosidade nupcial de *P. mystacalis*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS. (C) GN corada com AB pH 2.5. (D) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C e D feita com azul de toluidina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

#### 4.3.4 Pleurodema

*P. diplolister* (figura 99): Estrato germinativo com crista possuindo de 6–7 células (4 camadas) com um platô de 1–2 células mais externas.

O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina com grandes projeções, geralmente de uma a três. Essas projeções geralmente são em forma de cone com cume arredondado, mas também

podem ser arredondadas. Além dessas, várias outras projeções menores de forma circular estão presentes ao longo das grandes PEs e dão aspecto rugoso às margens da queratina. Os blocos de queratina são compactos.

A derme apresenta GNs com grânulos pequenos, GNs com grânulos grandes e GNs com dois tipos de grânulos. Todas medindo entre 0,114mm e 0,095mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,019 e 0,017).

A espessura da epiderme tem média de 0,1mm em suas porções mais espessas e 0,07mm nas mais finas (sd = 0,007 e 0,006). O epitélio 0,4mm em suas porções mais espessas e 0,25mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,06).

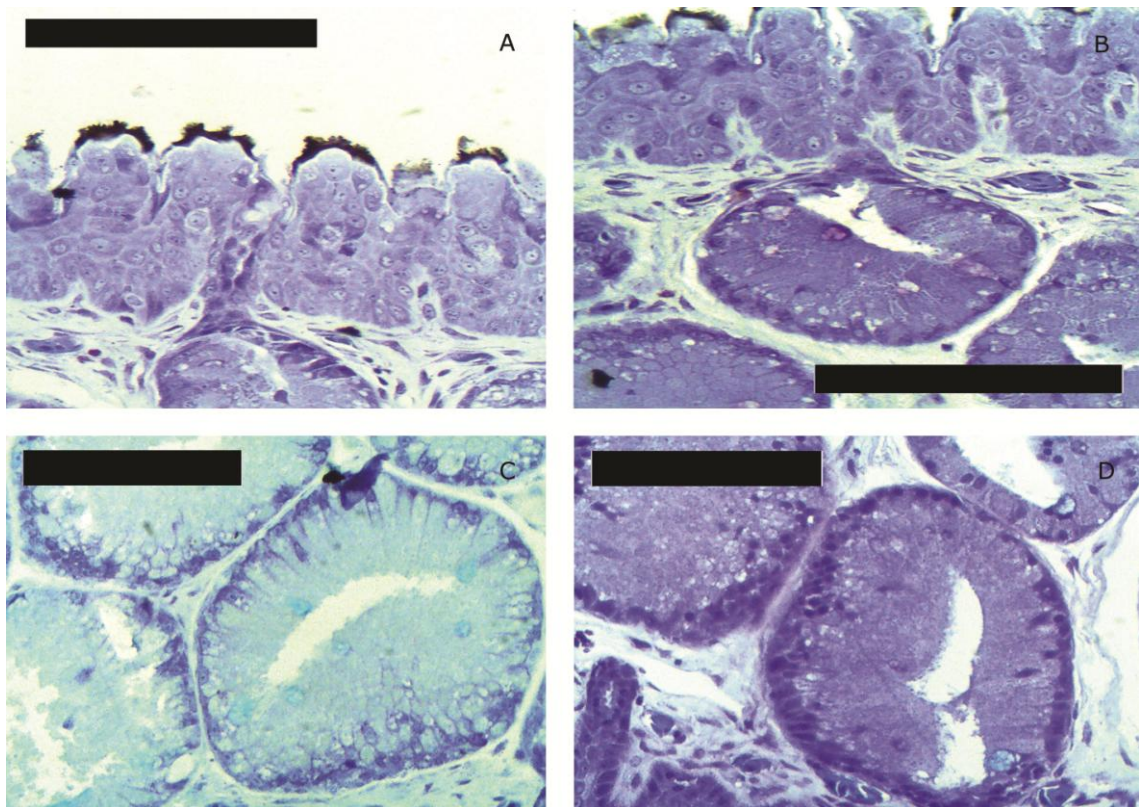


Figura 99. Histologia da calosidade nupcial de *P. diplolister*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS. (C) GN corada com AB pH 2.5. (D) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C e D feita com azul de toluidina. Escalas de 12.5µm.

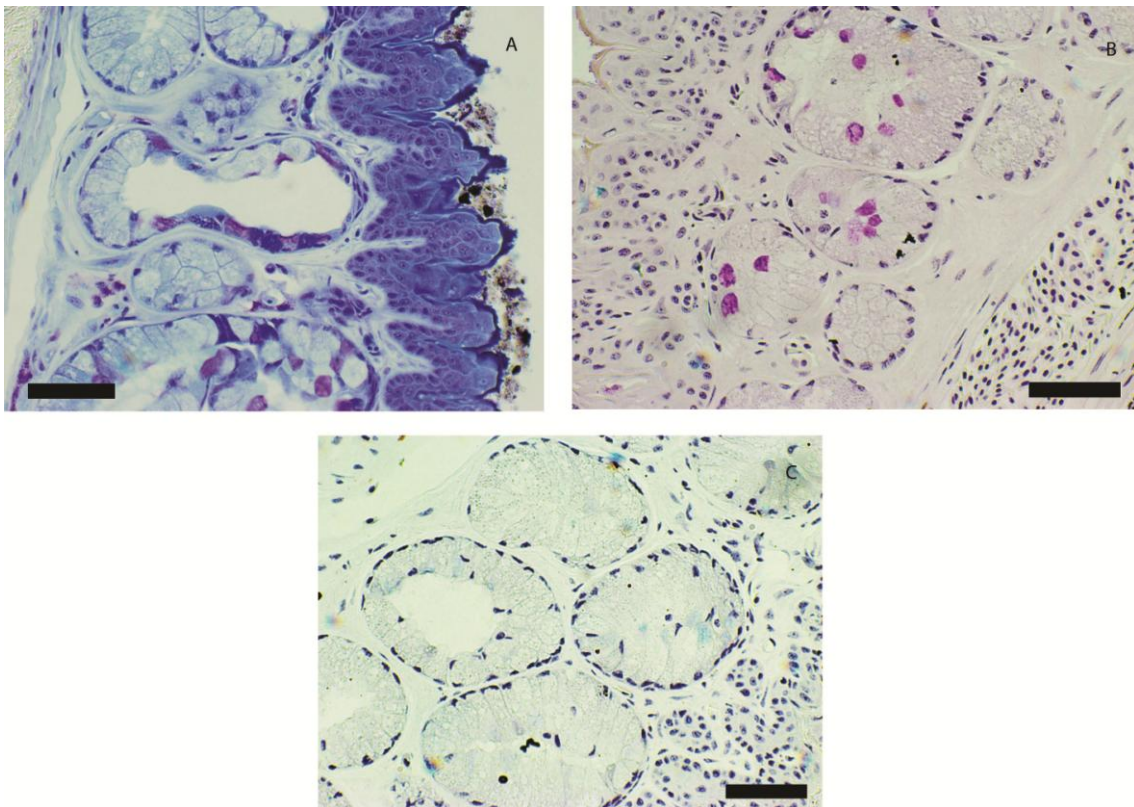


***P. alium* (figura 100):** Estrato germinativo com crista possuindo de 6–8 células (4 camadas) com 2–3 células arranjadas de maneira em que, ou uma delas é mais externa que as demais, ou duas formam um platô.

O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco de queratina sem grandes projeções. Entretanto várias projeções menores em forma de espícula estão presentes ao longo das margens da queratina. Os blocos de queratina são compactos.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,12mm e 0,09mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,017 e 0,01). Não apresenta GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,086mm em suas porções mais espessas e 0,03mm nas mais finas (sd = 0,015 e 0,0025). O epitélio 0,29mm em suas porções mais espessas e 0,23mm nas mais finas (sd = 0,06 e 0,05).



**Figura 100.** Histologia da calosidade nupcial de *P. alium*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

#### 4.3.5 *Paratelmato bius*

*P. poecilogaster* (figura 101): Estrato germinativo com crista epidérmica e papila dérmica inclinadas. A porção apical da crista possui de 8–14 células (5 camadas) com 3 células arranjadas de maneira em que uma delas é mais externa que as demais.

O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa que segue o arranjo arredondado das células da porção apical. Em cada ápice de crista, forma-se uma margem de queratina dura compacta sem projeções.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,10mm e 0,7mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,02 e 0,005). Presença também de GGs medindo 0,07mm e 0,06mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,001 e 0,004).

A espessura da epiderme tem média de 0,076mm em suas porções mais espessas e 0,038mm nas mais finas (sd = 0,011 e 0,003). O epitélio 0,23mm em suas porções mais espessas e 0,19mm nas mais finas (sd = 0,015 e 0,007).

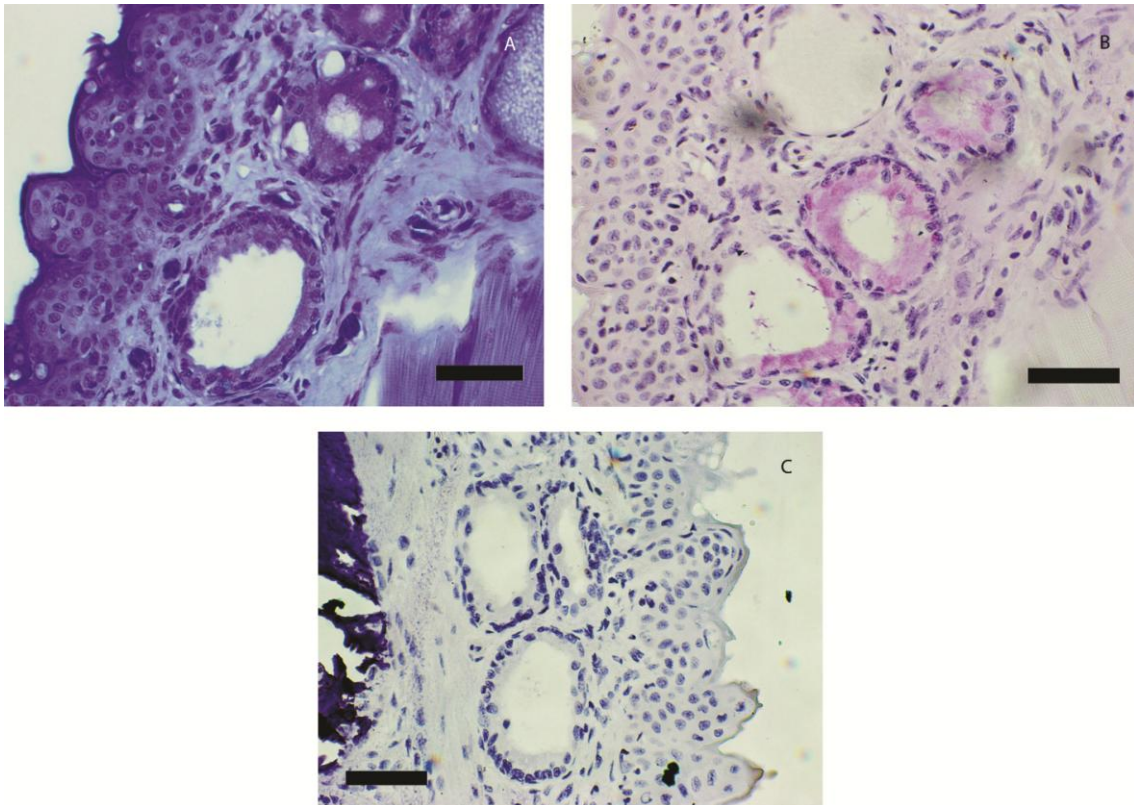


Figura 101. Histologia da calosidade nupcial de *P. poecilogaster*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

***P. lutzii* (figura 102):** Estrato germinativo com crista epidérmica e papila dérmica inclinadas. A porção apical da crista possui grande número de células (5 camadas) com 3 células da última camada arranjadas de maneira que uma delas pode ser ligeiramente mais externa que as demais ou todas formarem um platô. Não é possível contar o número de células da crista já que seus limites são difusos e a superfície externa não se invagina significativamente em direção a derme (há apenas a formação de uma ligeira projeção). A camada mais apical de células retêm seus núcleos achatados lateralmente e escurecidos (picnóticos) e são volumosas.

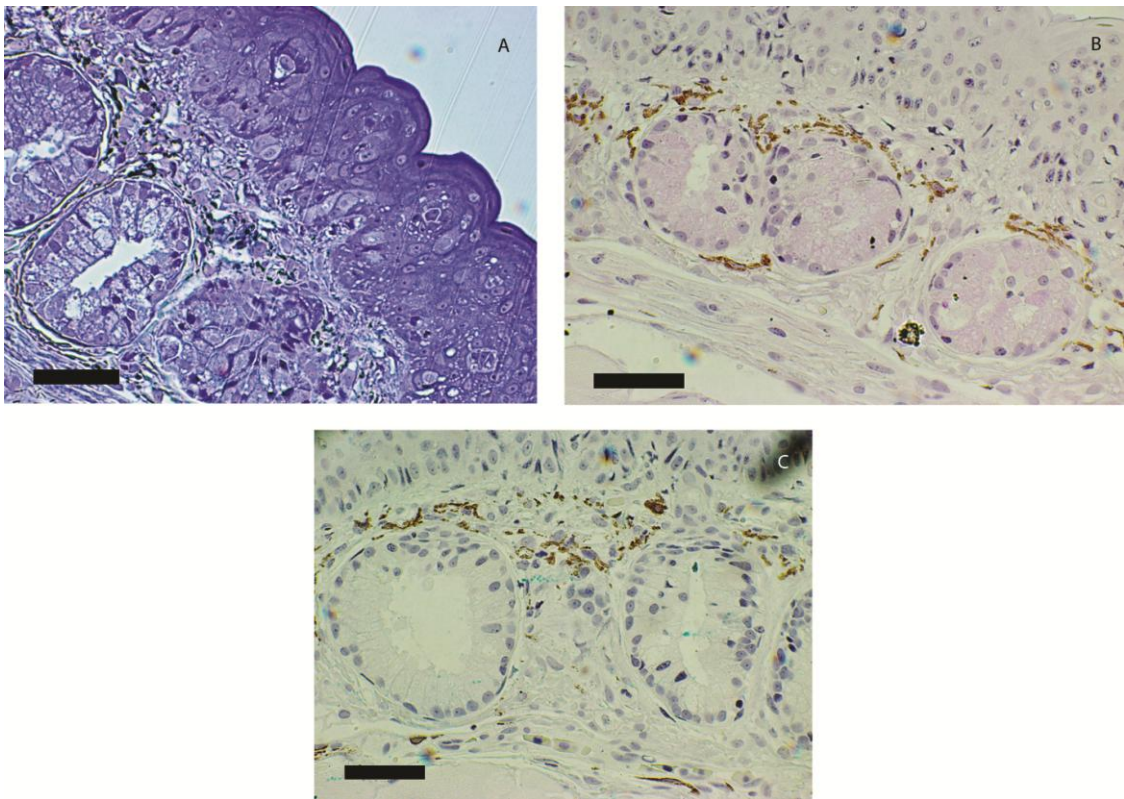
O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa que segue o arranjo arredondado das células da porção apical. Em cada ápice de crista, forma-se uma fina camada de queratina mole e coloração ligeiramente mais escura do que a da última



camada do estrato germinativo. Não apresenta qualquer tipo de projeção ou ornamentação.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,14mm e 0,11mm de diâmetro máximo e mínimo, respectivamente (sd = 0,015 e 0,015). Não apresenta GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,086mm em suas porções mais espessas e 0,057mm nas mais finas (sd = 0,0057 e 0,005). O epitélio 0,27mm em suas porções mais espessas e 0,24mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,02).



**Figura 102.** Histologia da calosidade nupcial de *P. lutzii*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

#### 4.3.6 *Crossodactylodes*

***C. itambe* (figura 103):** Estrato germinativo uniforme, sem reentrâncias, acompanhado por derme (não forma papilas) na forma do espinho. O estrato possui 6 camadas de célula em toda sua extensão. As células da primeira camada (basal) possuem projeções finas (mais arredondadas e espessas que as de *L. petersii*), que se estendem em direção à lâmina basal. As células da última camada são escurecidas em relação as demais.

O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa que segue o arranjo em espinho. Ao longo de toda superfície do estrato germinativo do calo, forma-se uma margem de queratina dura, compacta e sem projeções. É possível identificar as células formadoras de cada bloco de queratina a partir de pequenas interrupções na superfície.

A derme não apresenta GNs, mas algumas GGs esparsas. As GGs tem ducto que se abre como uma interrupção no estrato córneo e epiderme. O cerne dos espinhos é formado apenas pela porção esponjosa da derme, de maneira que o estrato compacto não possui reentrâncias e segue uniforme abaixo do esponjoso.

A espessura da epiderme tem média de 0,043mm (sd = 0,005). O epitélio 0,36mm (sd = 0,09).

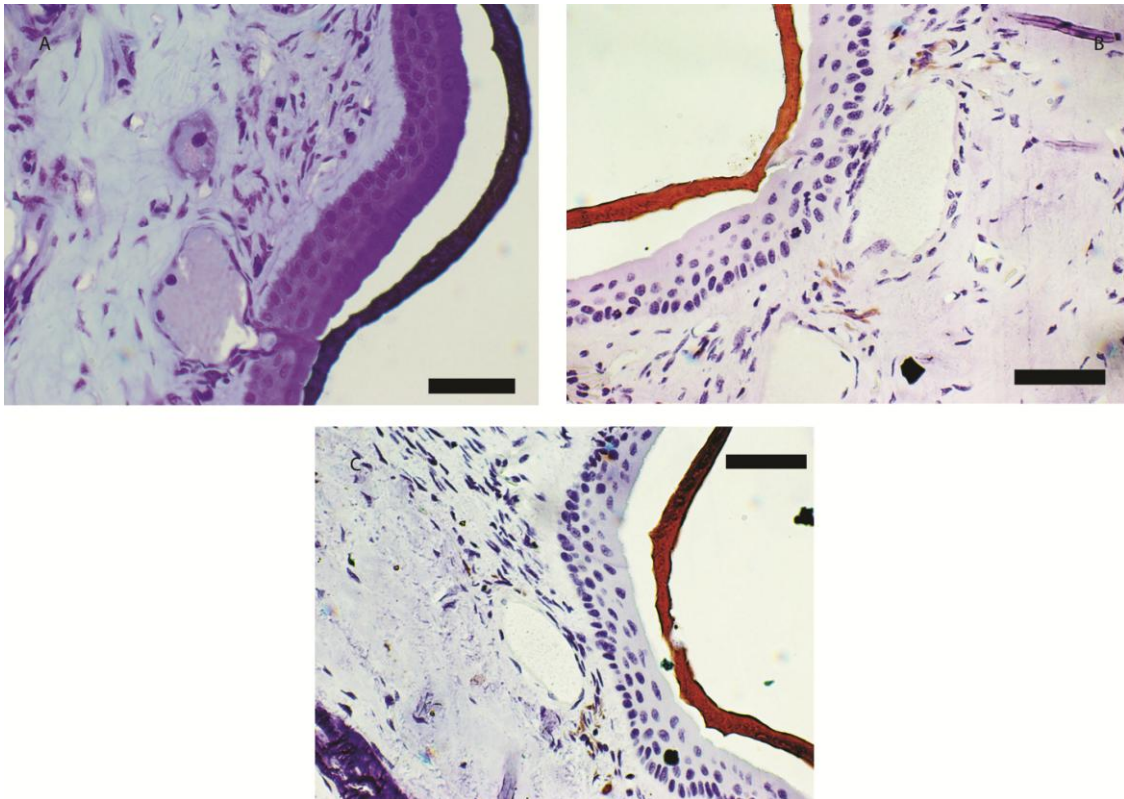


Figura 103. Histologia da calosidade nupcial de *C. itambe*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

#### 4.3.7 *Rupirana*

***R. cardosoi* (figura 104):** Estrato germinativo com crista possuindo de 9–11 células (4 camadas) com 3–5 células na camada apical, arranjadas em forma de semicírculo. Toda a crista epidérmica é envolta por queratina escura.

O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco compacto de queratina dura com projeções trapezóides. Ornamentações em forma de espícula estão presentes ao longo das margens da queratina.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,05mm e 0,049mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,002 e 0,001). Não apresentam GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,076mm em suas porções mais espessas e 0,03mm nas mais finas (sd = 0,015 e 0,003). O epitélio 0,29mm em suas porções mais espessas e 0,18mm nas mais finas (sd = 0,02 e 0,01).

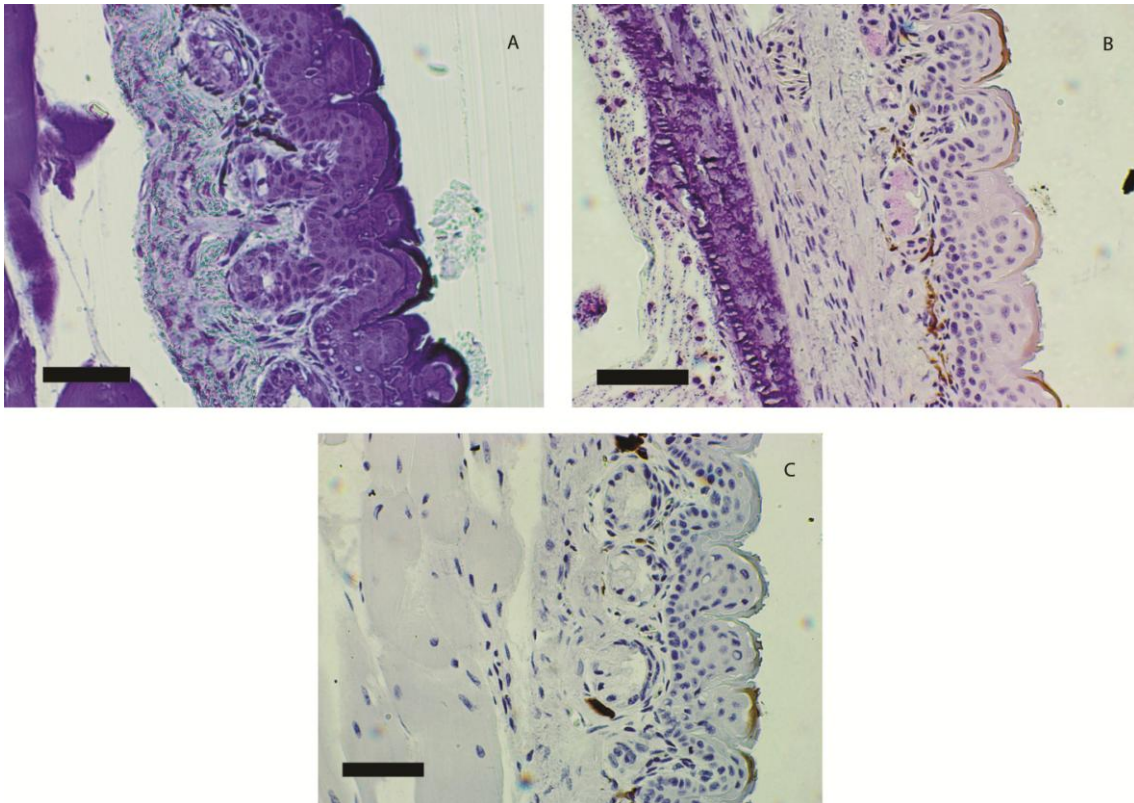


Figura 104. Histologia da calosidade nupcial de *R. cardosoi*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.

#### 4.3.8 *Scytrophrys*

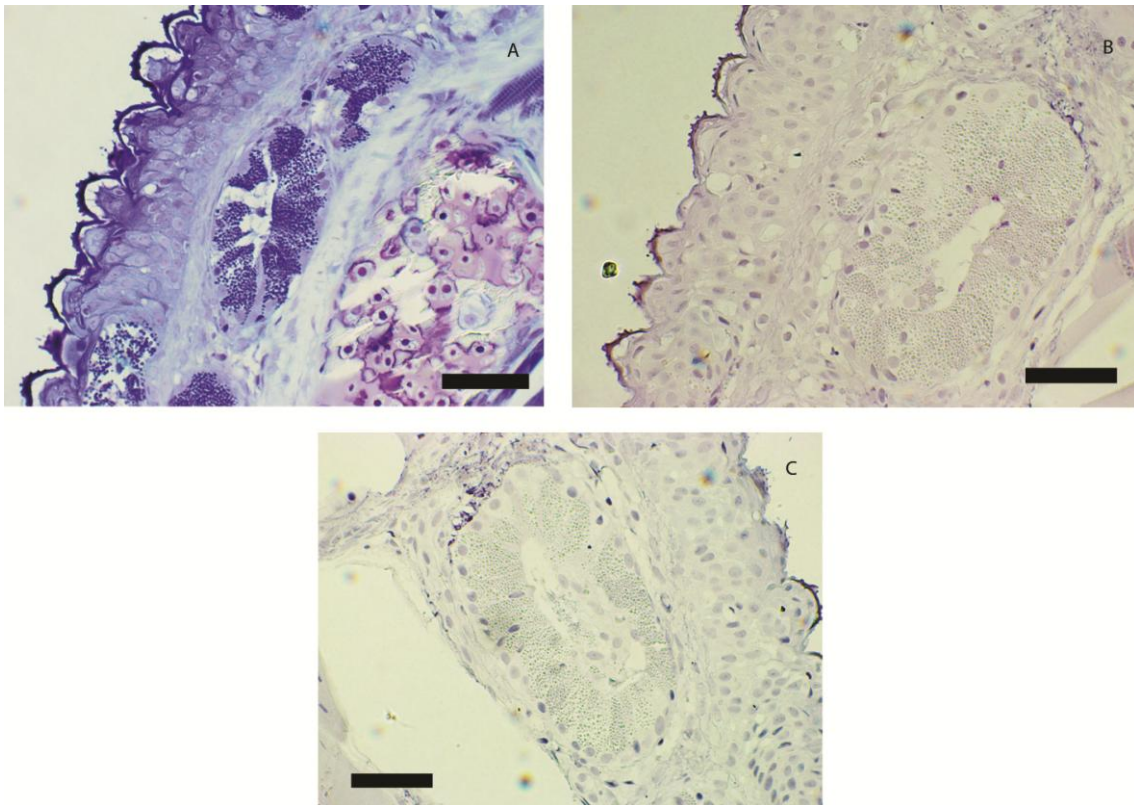
*S. arijui* (figura 105): Estrato germinativo com crista possuindo de 9–11 células (5 camadas) com 3–5 células na camada apical, arranjadas em forma de semicírculo. Toda a crista epidérmica é envolta por queratina escura.



O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa. Em cada ápice de crista, forma-se um bloco compacto de queratina dura com projeções cônicas, circulares ou trapezoides. Ornatações não estão presentes.

A derme apresenta GNs com um tipo de grânulo. Medem entre 0,10mm e 0,055mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,02 e 0,005). Não apresenta GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,073mm em suas porções mais espessas e 0,04mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,0025). O epitélio 0,15mm em suas porções mais espessas e 0,12mm nas mais finas (sd = 0,06 e 0,057).



**Figura 105. Histologia da calosidade nupcial de *S. arijui*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5µm.**



#### 4.3.9 *Leptodactylus*

*L. petersii* (figura 106): Estrato germinativo com cada crista epidérmica e papila dérmica formando um grande espinho. O estrato possui 6 camadas de célula em toda sua extensão. As células da primeira camada (basal) possuem finas projeções que se estendem em direção à lâmina basal. As células da camada mais apical não são escurcidas em relação às demais.

O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa que segue o arranjo em espinho. Ao longo de toda superfície do estrato germinativo do calo, forma-se uma margem de queratina dura, compacta, sem projeções ou interrupções.

Além das modificações no epitélio, uma projeção óssea serve de cerne para o espinho queratinizado.

A espessura da epiderme tem média de 0,11mm (sd = 0,02). O epitélio 0,14mm (sd = 0,01).



Figura 106. Histologia da calosidade nupcial de *L. petersii*. Epitélio corado com azul de toluidina. Escala de 12.5µm.

#### 4.3.10 *Vitreorana*

***V. uranoscopa* (figura 107):** Estrato germinativo não amparado por papilas dérmicas e não completamente dotado de cristas epidérmicas. A porção dotada de cristas é formada de 6 camadas de células e na sua ausência, apenas 3–4 camadas. A crista tem forma cônica onde um maior número de células basais sustenta um menor número de células apicais até um cume de única célula. Geralmente composta por 3 camadas além das formadoras do epitélio normal.

O estrato córneo apresenta uma superfície tortuosa na porção distal e lisa na porção proximal, seguindo o arranjo das cristas e porção sem cristas respectivamente. Ao longo de toda a calosidade forma-se uma fina camada de queratina mole e coloração ligeiramente mais escura do que a da última camada do estrato germinativo. Não apresenta qualquer tipo de projeção ou ornamentação.

A derme apresenta GNs com apenas um tipo de grânulo. Medem entre 0,16mm e 0,13mm de diâmetro máximo e mínimo respectivamente (sd = 0,04 e 0,02). As glândulas são diferentemente organizadas em relação aos Leptodactylidae, se aglomerando. Não apresenta GGs.

A espessura da epiderme tem média de 0,073mm em suas porções mais espessas e 0,04mm nas mais finas (sd = 0,01 e 0,01). O epitélio 0,36mm em suas porções mais espessas e 0,15mm nas mais finas (sd = 0,06 e 0,06).

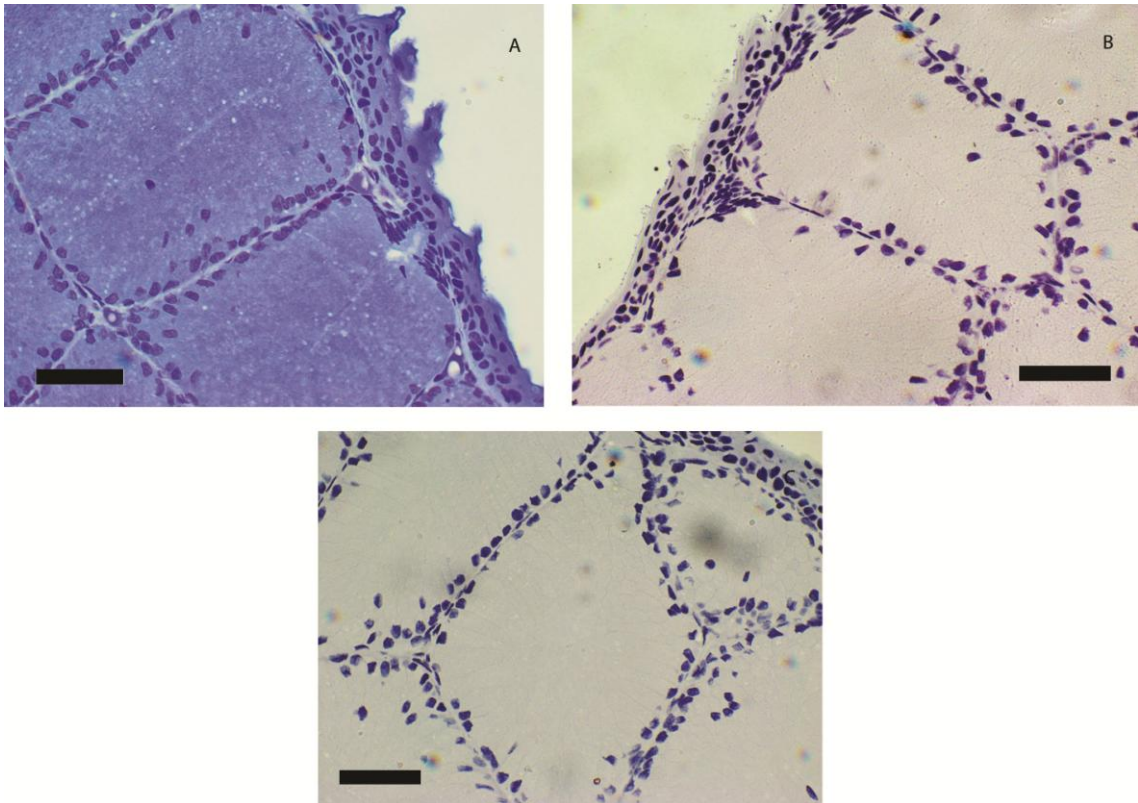


Figura 107. Histologia da calosidade nupcial de *V. uranoscopa*. (A) epiderme corada com azul de toluidina. (B) glandula nupcial (GN) corada com PAS+AB pH2.5. (C) GN corada com AB pH 0.5. Contra coloração para B, C feita com hematoxilina. Escalas de 12.5 $\mu$ m.

#### **4.4 Lista de caracteres e matriz.**

0. Calosidade nupcial no carpo (figura 108). Calosidade recobrimdo a região mais proximal do dedo (carpo).

(0) ausente

(1) presente

1. Calosidade nupcial dividida ou com indícios de divisão (figura 108). Interrupção da calosidade no fim do calo metacarpal interno e reinício numa porção distal do metacarpo. Em algumas espécies, a calosidade apesar de ser única apresenta as margens não sobrepostas, irregulares e com diferença de relevo no local onde haveria o intervalo entre as duas partes, enquanto outras apresentam uma calosidade uniforme e contínua no intervalo, sem aparentes indícios de divisões (figuta 109).

(0) ausente

(1) presente

2. Calosidade nupcial na falange (figura 108). Calosidade cobrindo alguma porção da falange.

(0) ausente

(1) presente

3. Calosidade nupcial com glândulas nupciais (figura 110).

(0) ausente

(1) presente

4. Calosidade nupcial queratinizada (figura 108). Ausencia ou presença de queratinização escura sobre a calosidade nupcial (entumescimento).

(0) ausente

(1) presente

5. Forma das Superfícies das PEs sob MEV(figura 111).

(0) Cônico

(1) Arredondado

(2) Plano (achatado)

6. Diferença de textura ápice-base na PE sob MEV (figura 110).

(0) ausente

(1) presente

7. Cobertura da superfície ventral do calo metacarpal interno por calosidade nupcial (figura 108).

(0) ausente

(1) presente

8. Densidade de PEs na calosidade nupcial.

(0) Até 20

(1) 20 a 1000

(2) >1000

9. Especialização de membrana nas PEs (figura 113).

(0) ACP: Aglomerados ou lâminas curtas com pequenas projeções circulares.

(1) FLPP: Folhas alongadas com pequenas projeções em toda superfície.

(2) GSPD: Grandes superfícies achatadas paralelas e apontando para o ápice, com projeções digitiformes nas bordas.

(3) PDC: Projeções em disco e em cordões em diferentes camadas de células.

(4) GPLC: Grandes projeções laterais circulares ou trapezóides margeando uma central de ápice ornamentado.

(5) GPP: Grandes projeções em pedúnculo com ápice achatado

(6) GSL: Grades superfícies achatadas direcionadas lateralmente, com projeções digitiformes nas bordas.

(7) CA: Células lisas de superfície achatada.

10. Extensão máxima da área de cobertura da calosidade nupcial sobre as falanges (figura 108).

(0) Parte da falange proximal (PFP)

(1) Toda falange proximal (TFP)

(2) Falange distal (FD)



11. Forma geral das PEs, visualizadas a partir de lupa (figura 112).

- (0) Lisa
- (1) Espinho
- (2) Pequenos espinhos
- (3) Lajota
- (4) Arredondado

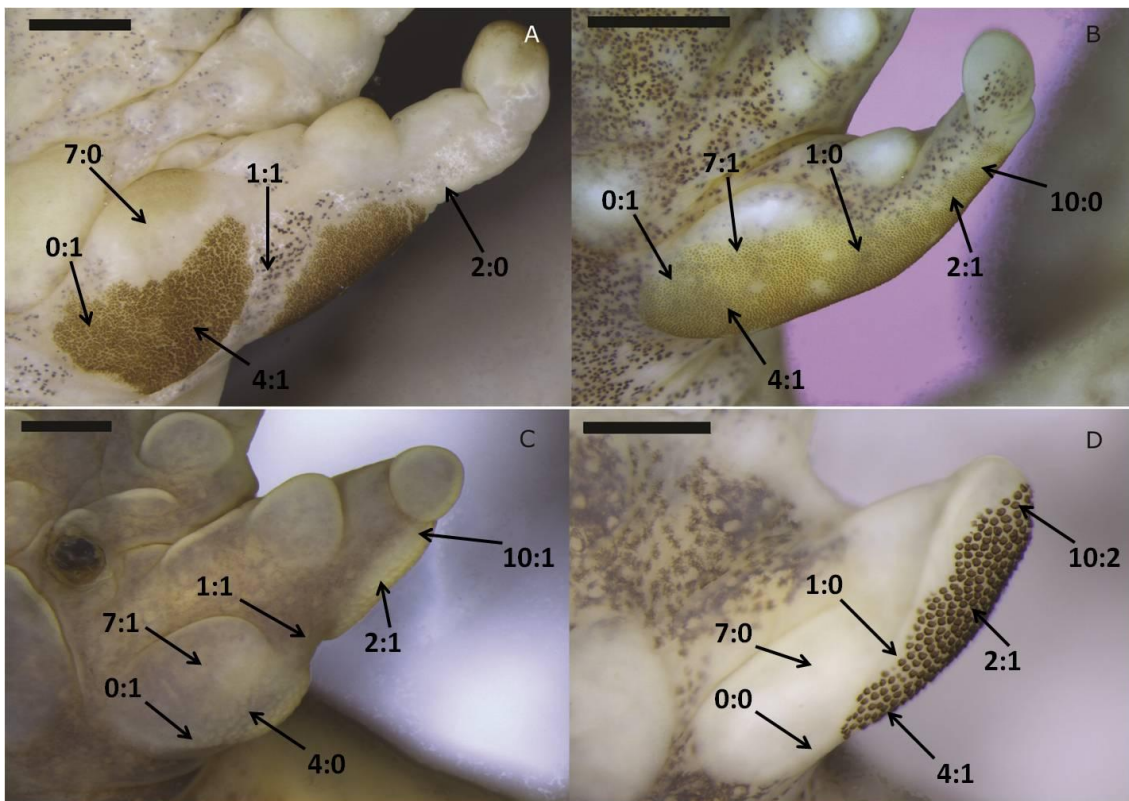


Figura 108. Representação dos caracteres. Caráter 0 (calosidade no carpo), caráter 1 (calosidade dividida), caráter 2 (calosidade na falange), caráter 4 (calosidade queratinizada), caráter 7 (calosidade cobrindo a face ventral do CMC), caráter 10 (extensão da calosidade sobre a falange).

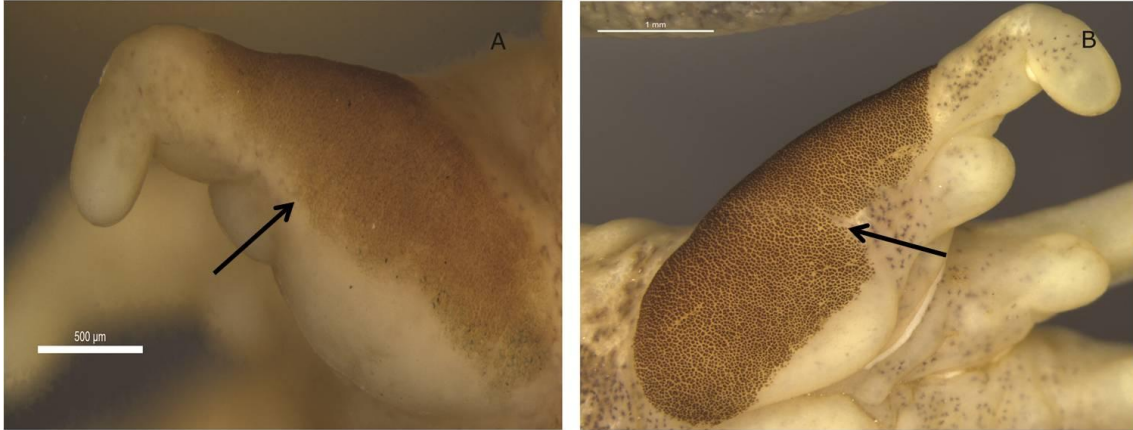


Figura 109. Representação de um indício de divisão em *Ph. Centralis* (B), com a borda da calosidade não uniforme na região próxima a margem distal do calo metacarpal interno. Em A, a calosidade sem interrupções ou indício de interrupção de *Ph. henselii*.

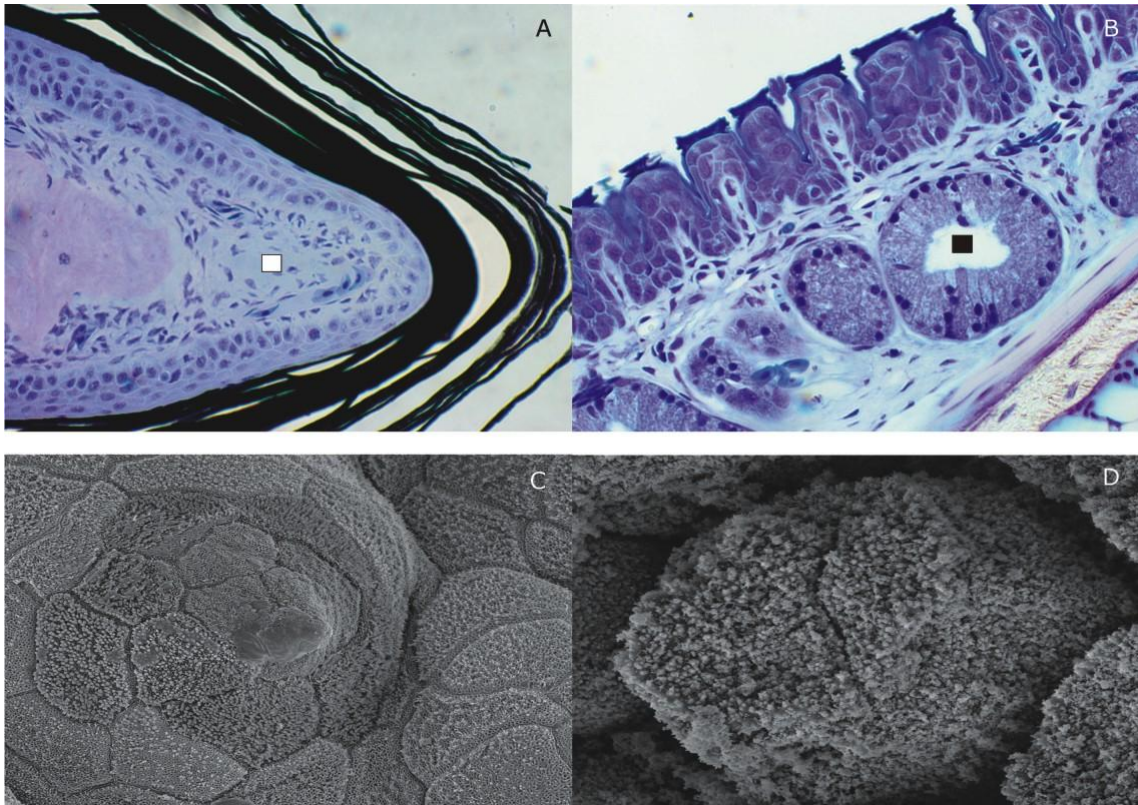
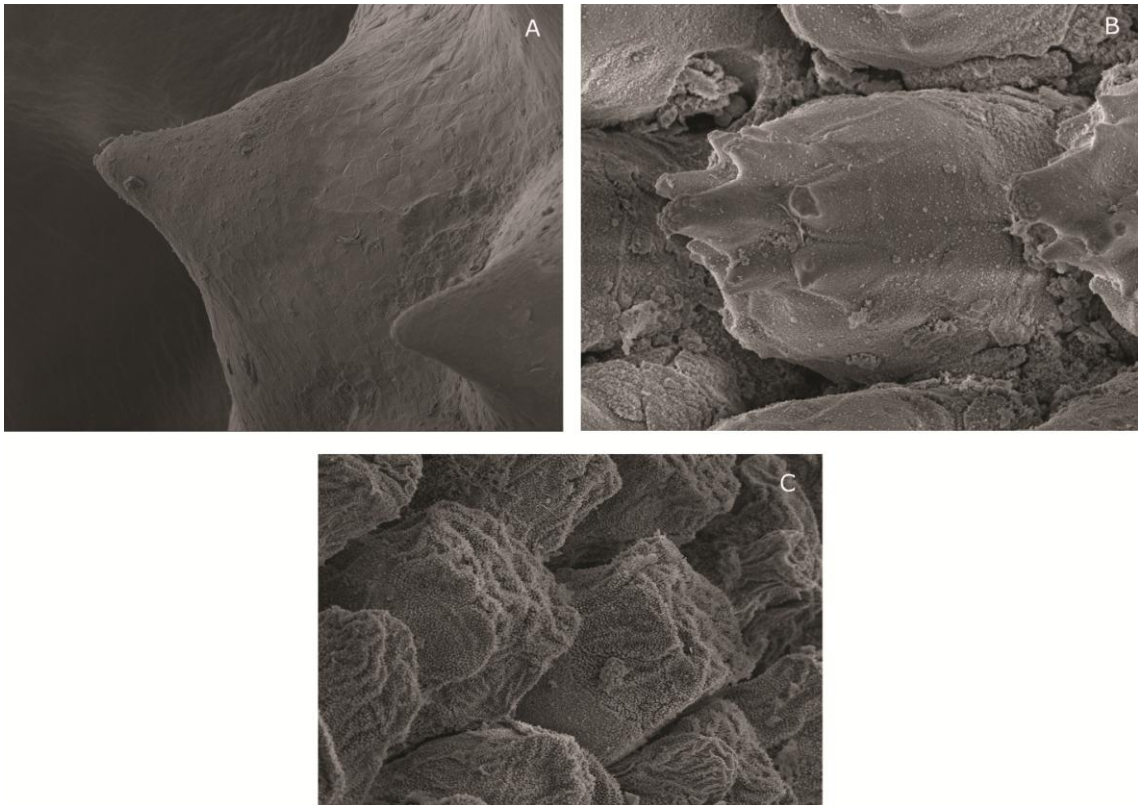


Figura 110. Representação dos caracteres. Caráter 3 presença de GNs (quadrado) em (A) e (B) (branco representa ausência e preto presença). Caráter 6 diferenciação ápice base (C) (presença) e (D) (ausência).



**Figura 111. Representação dos caracteres. Caráter 5 forma da superfície das PEs: (A) e (B) superfície cônica e (C) superfície plana.**



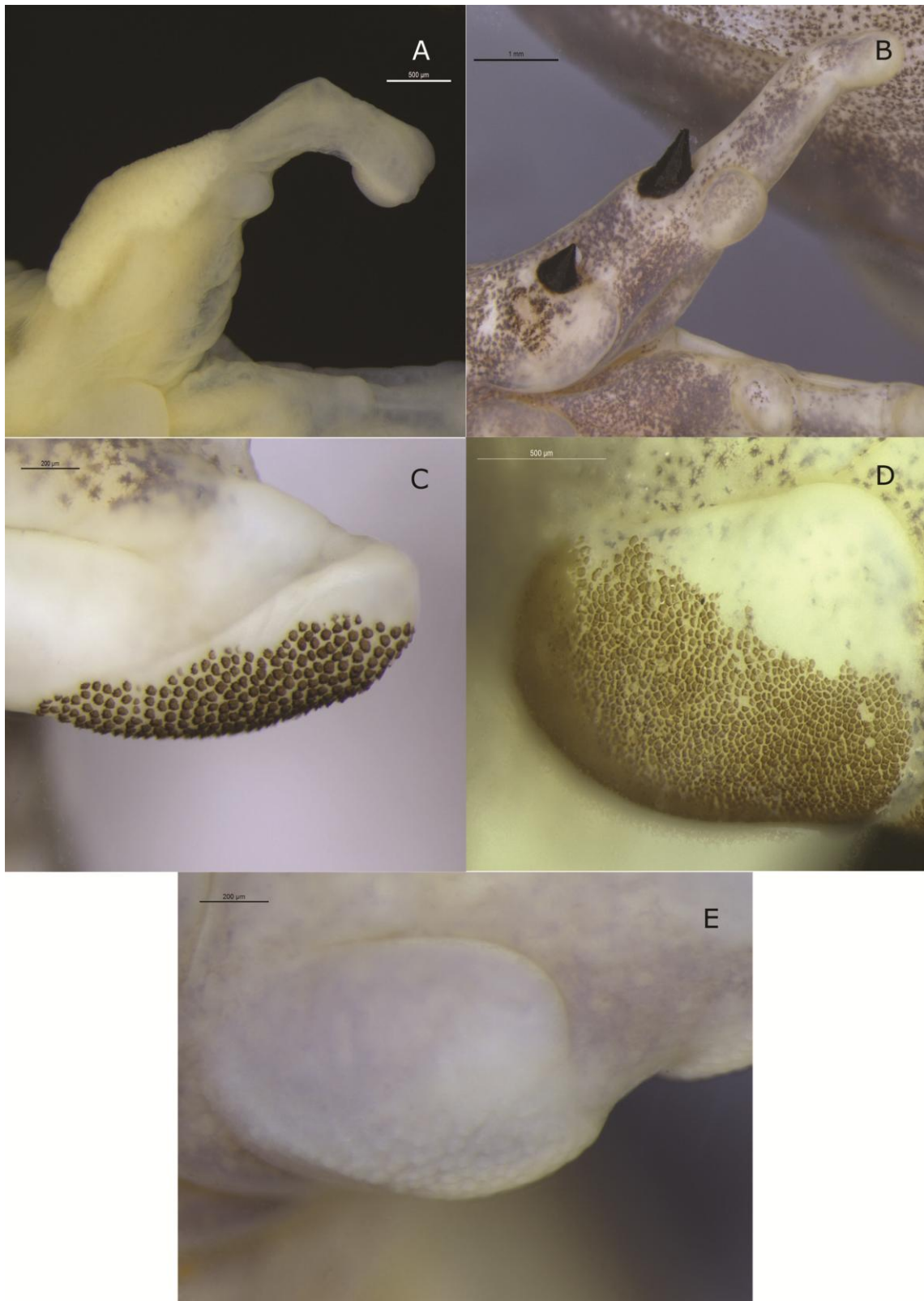
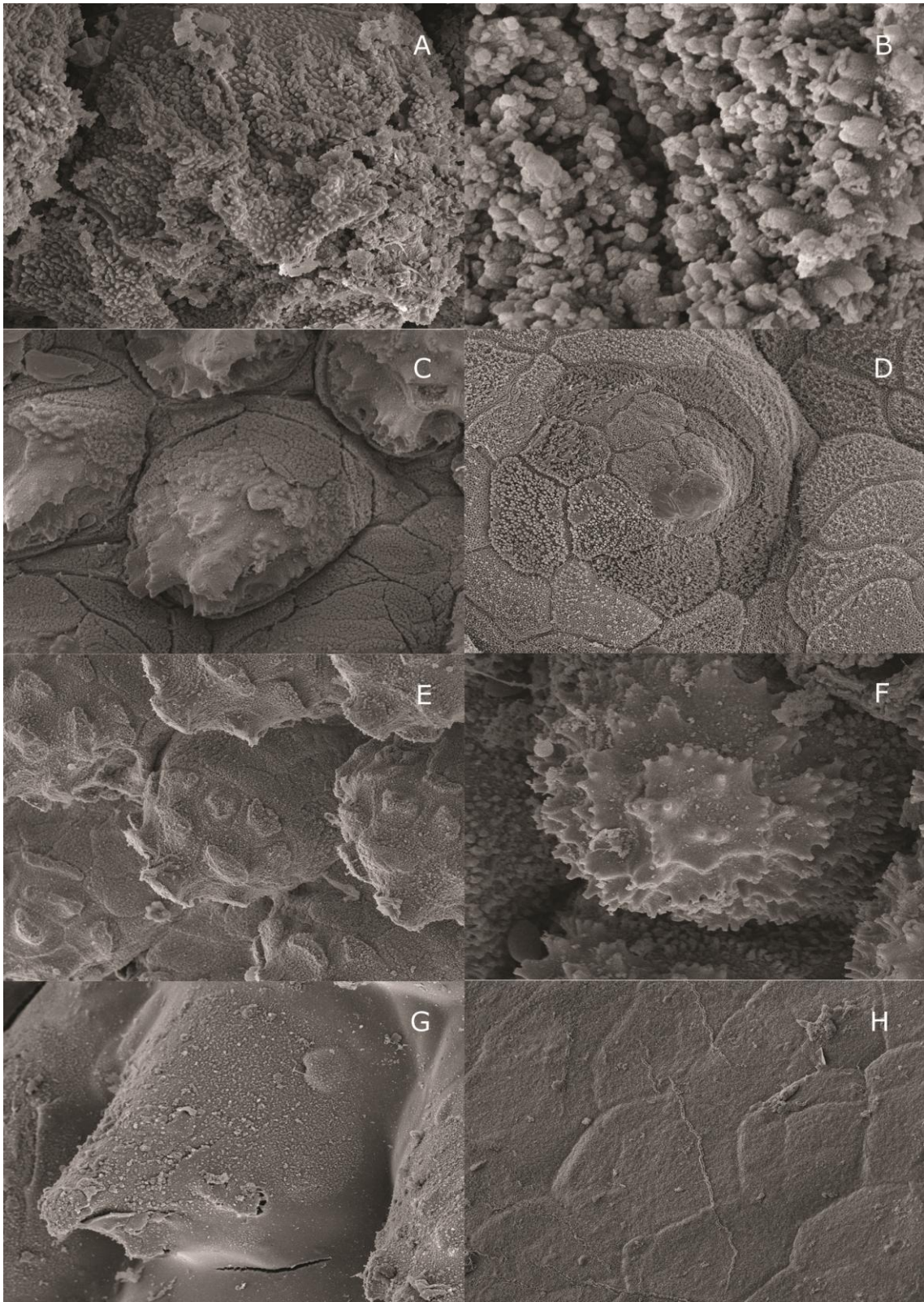


Figura 112. Representação dos caracteres. Caráter 11 forma geral das PEs: (A) aspecto liso, (B) espinho, (C) pequenos espinhos, (D) lajota, (E) arredondado.





**Figura 113. Representação dos caracteres. Caráter 9 especialização de membrana das PEs: (A) FLPP, (B) ACPP, (C) GSPD, (D) PDC, (E) GPLC, (F) GPP, (G) GSL, (H) CA.**

Tabela 1. Matriz de caracteres das calosidades nupciais. NA=Não se aplica

Espécie	Caráter											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>V. uranoscopa</i>	0	0	0	1	0	NA	?	0	?	?	NA	0
<i>L. petersii</i>	0	1	0	0	1	0	0	0	0	7	NA	1
<i>R. cardosoi</i>	1	1	1	1	1	1	0	1	1	5	1	2
<i>S. sawayae</i>	1	0	1	1	1	1	0	0	2	6	1	3
<i>S. arijui</i>	1	0	1	1	1	1	0	0	2	6	1	3
<i>C. bokermanni</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	7	1	1
<i>C. itambe</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	7	1	1
<i>C. izecksohni</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	7	1	1
<i>C. sp</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	7	1	1
<i>P. cardosoi</i>	0	0	1	1	1	0	1	0	1	2	2	2
<i>P. gaigeae</i>	1	1	1	1	1	0	1	1	1	4	2	2
<i>P. langonei</i>	1	1	1	1	1	?	?	0	1	?	2	2
<i>P. poecilogaster</i>	1	1	1	1	1	0	0	1	1	4	2	2
<i>P. lutzii</i>	1	1	1	1	0	0	1	1	2	3	1	4
<i>P. mystacalis</i>	1	0	1	1	1	1	?	1	2	?	0	3
<i>P. serrana</i>	1	0	1	1	1	1	0	1	2	0	0	3
<i>P. diplolister</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	0	3
<i>P. alium</i>	1	1	1	1	1	?	?	1	2	?	0	3
<i>P. cuvieri</i>	1	1	0	1	1	2	0	1	2	0	NA	3
<i>P. centralis</i>	1	1	0	1	1	?	?	1	2	0	NA	3
<i>P. kroyeri</i>	1	1	0	1	1	2	0	1	2	0	NA	3
<i>P. albonotatus</i>	1	1	0	1	1	2	0	1	2	0	NA	3
<i>P. cicada</i>	1	1	0	1	1	2	0	1	1	0	NA	3
<i>P. nattereri</i>	1	1	1	1	1	?	?	1	1	?	0	3
<i>P. crombiei</i>	1	1	1	1	1	?	?	1	2	?	1	3
<i>P. moreirae</i>	1	1	1	1	1	2	1	1	2	0	1	3
<i>P. signifera</i>	1	1	1	1	1	2	0	1	1	0	1	3
<i>P. nanus</i>	1	1	1	1	1	2	0	1	2	0	1	3
<i>P. gracilis</i>	1	1	0	1	1	?	?	1	2	?	NA	3
<i>P. evangelistai</i>	1	1	0	1	1	2	0	1	2	0	NA	3
<i>P. lisei</i>	1	0	1	1	1	1	1	1	2	0	0	3
<i>P. olfersii</i>	1	1	0	1	1	?	?	1	2	?	NA	3
<i>P. orophilus</i>	1	1	0	1	1	2	0	1	2	0	NA	3
<i>P. feioi</i>	1	1	0	1	1	?	?	1	2	?	NA	3
<i>P. lateristriga</i>	1	1	0	1	1	2	1	1	2	0	NA	3
<i>P. maximus</i>	1	1	0	1	1	1	0	1	2	0	NA	3
<i>P. biligonigerus</i>	1	1	0	1	1	1	0	0	2	0	NA	3
<i>P. albifrons</i>	1	1	0	1	1	2	1	1	2	0	NA	3
<i>P. marmoratus</i>	1	1	0	1	1	1	0	0	2	0	NA	3
<i>P. deimaticus</i>	1	1	1	1	1	2	1	1	1	0	1	3
<i>P. erythros</i>	1	1	1	1	1	2	0	1	1	0	1	3
<i>P. rupestris</i>	1	1	1	1	0	?	?	1	?	?	1	3
<i>P. riograndensis</i>	1	1	0	1	1	?	?	0	2	?	NA	3
<i>P. henselii</i>	1	0	1	1	1	?	?	1	2	?	0	3

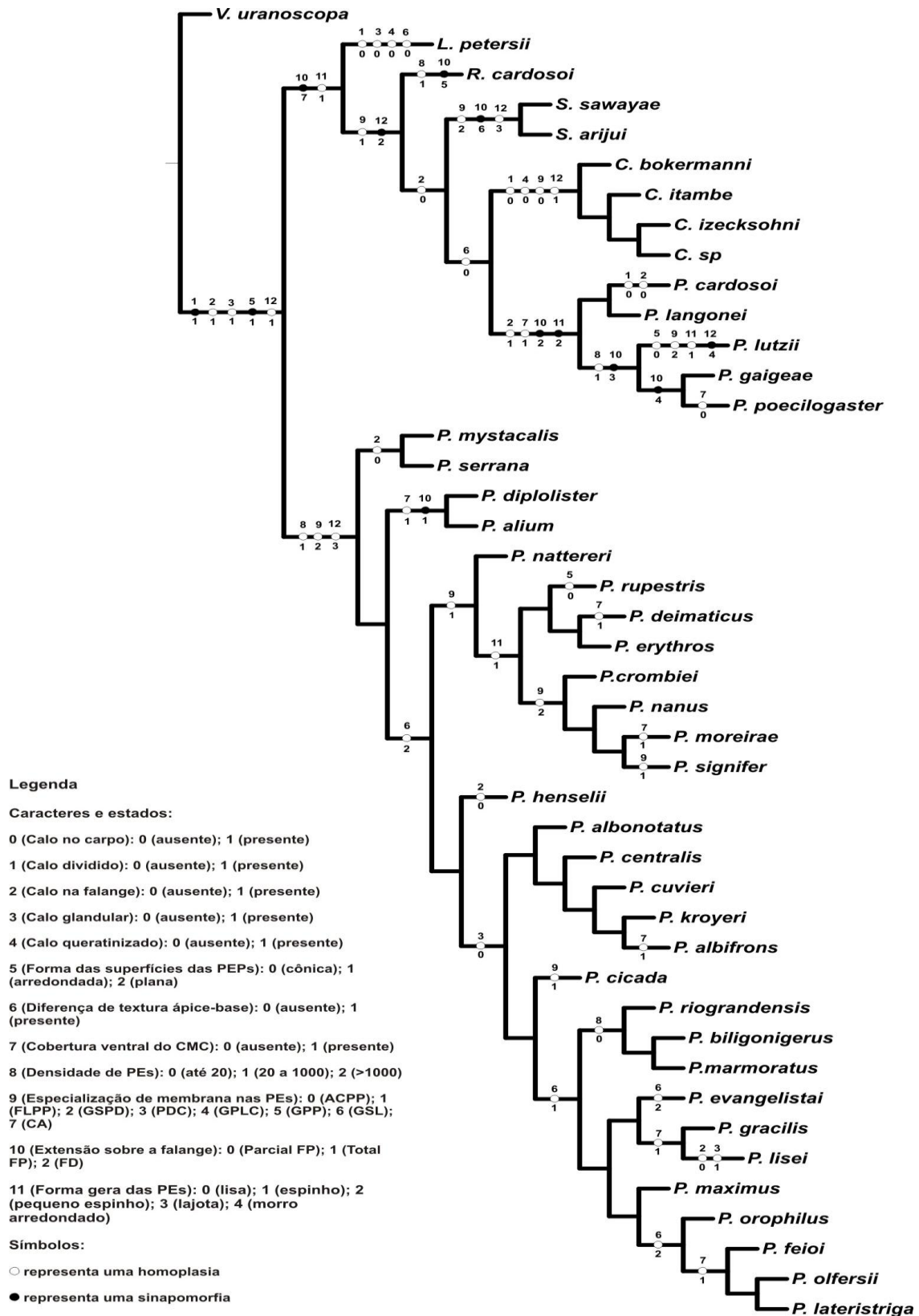


Figura 114. Otimização por ACCTRAN dos caracteres levantados numa compilação da filogenia de Lourenço et al. (2015), Lourenço et al. (2007), Teixeira Jr et al. (2013) e Santos, M. T. T.



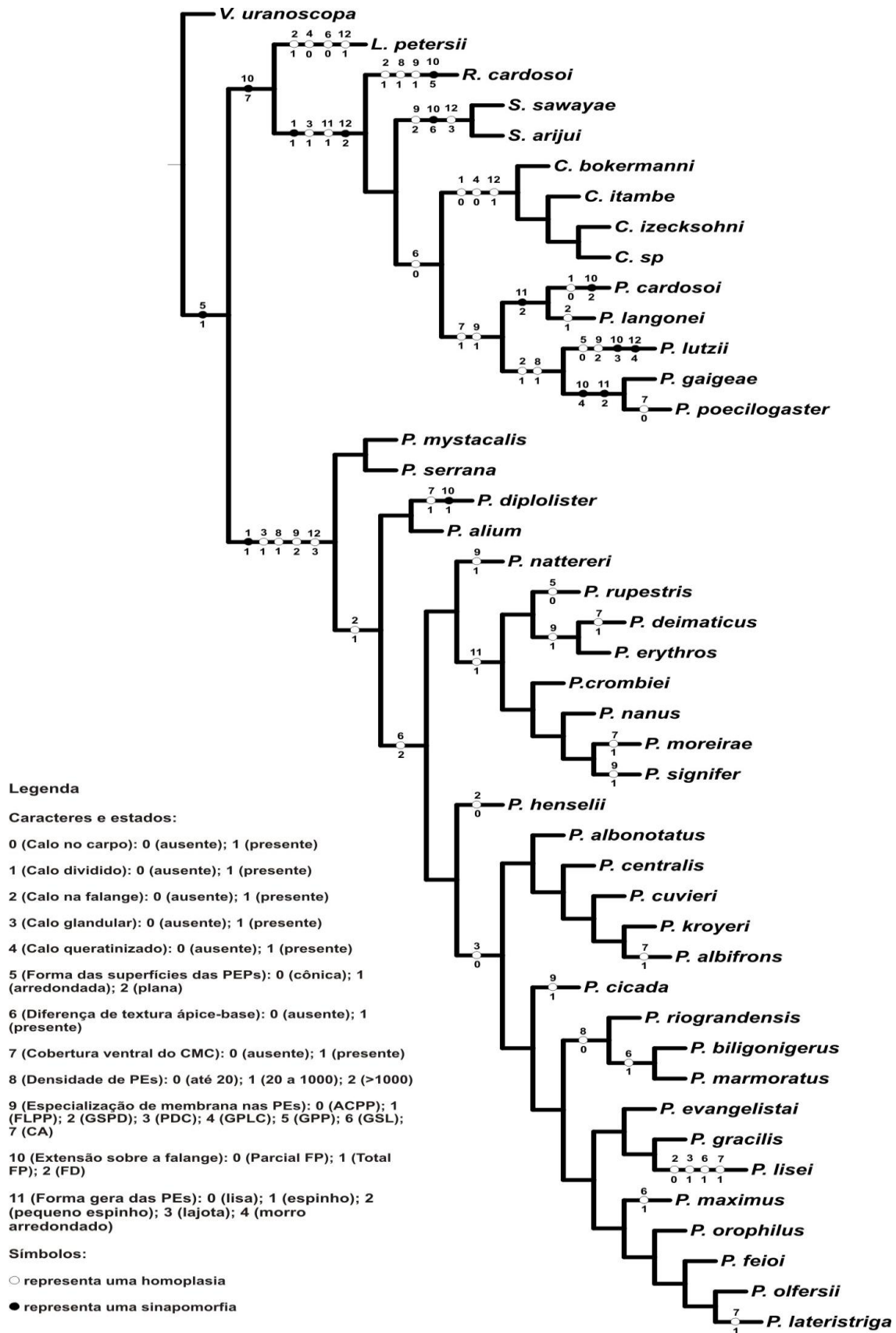


Figura 115. Otimização por DELTRAN dos caracteres levantados numa compilação da filogenia de Lourenço et al. (2015), Lourenço et al. (2007), Teixeira Jr et al. (2013) e Santos, M. T. T.

## 5. Discussão

### 5.1 Morfologia

#### - Estrutura individual (caráter 11)

Dentre as espécies analisadas, a estrutura individual das PEs se mostrou bastante conservada dentro dos gêneros, fora algumas poucas exceções, principalmente devido à ausência de queratinização dos calos. Além disso, as estruturas de *Leiuperinae* e *Scytrophrys* compartilham o aspecto em lajota com PEs baixas, de subunidades distinguíveis e sem projeções nas subunidades. *Paratelmatoobius* e *Rupirana* compartilham o aspecto de pequenos espinhos com PEs mais altas, com projeções nas subunidades. *Crossodactylodes* e *Leptodactylus* compartilham o aspecto de espinho alto. Entretanto, essas semelhanças não corroboram os agrupamentos filogenéticos dentro da família, indicando tais características como homoplásicas. Um possível cenário evolutivo é que estruturas semelhantes às de *Leiuperinae* tenham surgido no ancestral que deu origem às três subfamílias. Posteriormente no, ancestral de *Leptodactylinae* essas estruturas teriam se modificado em espinhos (sinapomorfia putativa). Em *Paratelmatoobinae* mantido o estado ancestral em *Scytrophrys*, modificado convergentemente em pequenos espinhos com projeções na linhagem de origem de *Rupirana* e *Paratelmatoobius* e modificado convergentemente (em relação à *Leptodactylinae*) em espinhos em *Crossodactylodes* (sinapomorfia putativa para esse último gênero assim como proposto por Fouquet et al. 2013). A forma em morro de *Pa. lutzii* seria uma autapomorfia putativa.

#### - Queratinização (caráter 4)

A alta queratinização das PEs aparenta ser uma plesiomorfia para *Leptodactylidae*, já que diversos outros membros da superfamília *Hyloidea* também apresentam essa característica (*Bufo*idae, [Peloso et al. 2012]; *Alsodia*idae, [Blotto et al. 2012]; *Hemiphractidae*, [Catenazzi & Von May 2011]; *Telmatobidae*, [Catenazzi et al. 2015, Barrionuevo 2016]; *Hylidae*, [Luna et al. 2012]; *Ceratophryidae*, [Barrionuevo 2016]). Dessa forma, a ausência de queratinização pode ser vista como uma sinapomorfia putativa de *Centrolenidae* de acordo com nossas observações em *V.*



*uranoscopa* e Cisneros-Heredia & McDiarmid (2007). Nesse estudo apenas uma espécie, *Nymphargus armata*, possui calosidade descrita como fracamente queratinizada, sendo a de todas as das demais espécies, glandulares. Portanto, consideramos convergências a ausência de uma queratinização robusta em *Pa. lutzii* e *Ph. rupestris* (ou ainda autapomorfias homoplásicas diferenciando essas espécies em meio aos seus gêneros).

- Número de subunidades

O número de subunidades formadoras, provavelmente correspondente ao número de células no ápice de cada PE, varia significativamente dentro de um mesmo indivíduo e tem grande sobreposição entre as espécies, de forma que sua utilização como caráter parece inadequada.

- Densidade de PEs (caráter 8)

Comparando-se as densidades a exemplo de Luna et al. (2012), um número significativo de PEs na calosidade parece ser o estado ancestral para Leptodactylidae, baseando-se nas numerosas protuberâncias glandulares dos Centrolenidae. Dessa forma, em Leptodactylinae e *Crossodactylodes* (Paratelmatobinae), há uma modificação para espinho (convergências entre si, mas apomorfias putativas homoplásicas), reduzindo a quantidade de PEs significativamente (até 20 no total). Em Paratelmatobinae a densidade de PEs é reduzida (menor que 1000 PEs/mm<sup>2</sup>) na maioria dos gêneros, com exceção de *Scytrophrys* (maior que 1000 PEs/mm<sup>2</sup>). Esse aumento na densidade pode ser uma sinapomorfia putativa para o gênero dentro dos Paratelmatobinae, mas uma homoplasia em comparação aos Leiuperinae. Poucas espécies dentro de Leiuperinae têm densidade inferior a 1000 PEs/mm<sup>2</sup> (sendo densidades superiores a 1000 PEs/mm<sup>2</sup> uma sinapomorfia putativa para o grupo) e pertencem principalmente ao clado *Ph. signifer*. Nesse clado não é possível determinar-se o estado ancestral. A retenção do estado plesiomórfico, entretanto, é a condição mais parcimoniosa para (*Ph. crombiei* (*Ph. nanus* (*Ph. moreirae*, *Ph. signifer*))). A redução de densidade seria uma convergência, surgindo independentemente no grupo *Ph. deimaticus*, em *Ph. nattereri* e

*Ph. signifer*. No clado *Ph. cuvieri*, a redução de densidade pode ser uma autapomorfia putativa de *Ph. cicada*. Apesar das homoplasias, a densidade de PEs parece ser um caráter razoável para a distinção dos grupos ou gêneros dentro das subfamílias (principalmente Paratelmatoquinae), que pode ser usado de forma complementar a outros caracteres para identificação das espécies.

#### - Topologia

Com relação à topologia das calosidades, obtivemos resultados significativos assim como Lynch & Ruiz-Carranza (1996) e Cisneros-Heredia & McDiarmid (2007) para os centrolenídeos. Aqui não classificaremos as calosidades em tipos, como nos trabalhos anteriormente citados, pois seriam muitos e nosso objetivo é buscar homologias entre partes.

Calo no carpo (caráter 0): a ausência de calosidade no carpo foi encontrada em *V. uranoscopa* (talvez nos demais Centrolenidae, a partir das ilustrações no trabalho de Cisneros-Heredia & McDiarmid 2007), *Crossodactylodes*, *L. petersii* e *P. cardosoi*, sendo portanto homoplasias. Em todos os demais gêneros, a calosidade se estende pelo carpo. A partir do material analisado e nossas otimizações não é possível se determinar um possível estado ancestral para o caráter entre Leptodactylidae e *Vitreorana*. A partir das ilustrações e fotografias de exemplares de outras famílias componentes de Hyloidea presentes na literatura (Peloso et al. 2012; Blotto et al. 2012; Catenazzi & Von May 2011; Catenazzi et al. 2015, Barrionuevo 2016; Luna et al. 2012; Barrionuevo 2016) grande parte das espécies não possuem essa extensão na calosidade. Entretanto (observações próprias), certos Bufonidae possuem calosidade no carpo de maneira que a extensão seria uma convergência em comparação com Leptodactylidae. O estado ancestral para a família segundo a otimização seria calo com extensão para o carpo. Dessa forma, há uma convergência entre *Crossodactylodes*, *L. petersii* (e os demais Leptodactylinae) e *Pa. cardosoi* que não apresentam calosidade no carpo. Portanto, esse caráter parece informativo para distinguirmos grande parte dos Leptodactylidae de algumas das demais famílias. Leptodactylinae de Leiuperinae e Paratelmatoquinae subfamílias. E em Paratelmatoquinae, *Crossodactylodes* dos demais gêneros; e no gênero *Paratelmatoquius*, *Pa. cardosoi* das demais espécies.

Calo dividido (caráter 1): a divisão da calosidade em uma parte que acompanha o calo metacarpal e outra distal ao longo do metacarpo, é encontrada na grande maioria dos animais estudados, com algumas variações intraespecíficas em *Physalaemus*. Fora dos Leptodactylidae são encontradas calosidades com (em Craugastoridae [Barrionuevo 2016] e Bufonidae [observações próprias]) e sem interrupção (basicamente todas as demais), de maneira que o possível estado ancestral desse caráter é o calo não dividido, embora em nossas otimizações não tenha sido possível determiná-lo. Levando essa informação em consideração, a divisão da calosidade pode ser uma sinapomorfia putativa de Leptodactylidae, com reversões em Paratelmatobinae para *Crossodactylodes*, *Scytrophrys* e *Pa. cardosoi*. E em Leiuperinae com reversões em *Pseudopaludicola* e *Ph. lisei*. Dentro das subfamílias, a calosidade sem interrupção parece ser um caráter informativo, para identificação tanto dos gêneros, quanto das espécies.

Calo na falange (caráter 2): dentre as outras famílias de Hyloidea, a calosidade na falange pode ou não estar presente. Ela está presente em Bufonidae (observações próprias), Telmatobidae (Catenazzi et al. 2015, Barrionuevo 2016), Alsodidae (Cuevas 2008); e pode ou não ocorrer em Phylomedusinae (Luna et al. 2012) e Centrolenidae (Cisneros-Heredia & McDiarmid 2007). Portanto, a determinação do estado ancestral para Leptodactylidae é incerta. Caso a calosidade presente na falange seja uma plesiomorfia para o grupo, temos a retenção do estado ancestral para todos os Paratelmatobinae e convergências, com redução da cobertura da calosidade entre os Leptodactylinae, parte dos Leiuperinae e parte dos Centrolenidae. Sob esse cenário, essa redução pode ser vista como uma sinapomorfia putativa de Lepodactylinae + Paratelmatobinae e, ainda, uma sinapomorfia putativa do clado *Ph. cuvieri* em Leiuperinae, com exceção de seu membro mais basal *Ph. henselii* e de reversão em *Ph. lisei*.

Extensão sobre a falange (caráter 10): como não podemos determinar o possível estado ancestral do caráter anterior, o mesmo é esperado para a extensão sobre a falange. Na literatura citada também nos é difícil determinar tais estados nas fotografias e desenhos (geralmente feitos em vista ventral), entretanto, em Bufonidae o calo se estende sobre toda a falange proximal em algumas espécies (observações próprias). Nas imagens são bem visíveis os calos na falange proximal, entretanto, pouco visíveis na

distal. Na otimização, uma extensão sobre toda a falange proximal surge convergentemente em Paratelmatoquinae e parte dos Leiuperinae. São também sinapomorfias homoplásicas de Paratelmatoquinae em relação a Leptodactylinae e de parte dos Leiuperinae (clado *Ph. signifer*, excluindo seu membro mais basal, *Ph. nattereri*). Podemos considerar que a extensão sobre a falange proximal está presente em todos os *Paratelmatoquinae*, já que como não há interrupção na calosidade, a extensão sobre a falange distal precede uma cobertura total da falange proximal. Nesse sentido, uma reformulação no caráter, ou formulação de outros seja necessária (por exemplo, cobertura da falange proximal [com os estados levando em consideração a quantidade de cobertura] e cobertura da falange distal [ausente/presente]). Em Leiuperinae, uma extensão parcial sobre a falange é recuperado como caráter ancestral com reversão em *Ph. lisei* no clado *Ph. cuvieri*, já que grande parte do grupo não possui falange coberta. A extensão sobre a falange distal é uma sinapomorfia putativa de *Paratelmatoquinae*, sofrendo uma reversão em *Pa. lutzii*.

Cobertura ventral do calo metacarpal interno (caráter 7): a otimização nos sugere que a ausência de cobertura ventral no calo metacarpal interno seja o estado ancestral. A presença do estado ancestral em todos os Centrolenidae precisa de verificação, já que os desenhos em Cisneros-Heredia & McDiarmid 2007 são apenas dorsais, embora a descrição geral seja de uma calosidade que se estende látero-dorsalmente. Dentre os outros trabalhos consultados, apenas em Telmatobiidae (Catenazzi et al. 2015) há a cobertura de parte da face ventral do calo metacarpal interno. Em bufonidae (observação própria), algumas espécies apresentam a face ventral da parte distal do calo metacarpal coberto pela calosidade nupcial. Não podemos afirmar a condição ancestral, mas a proposta da otimização parece plausível. Sob esse panorama, em Paratelmatoquinae + Leptodactylinae há a retenção do estado ancestral em *Leptodactylus*, *Crossodactylodes*, *Scytrophrys* e parte de *Paratelmatoquinae*. Em *Rupirana* e o agrupamento *Pa. poecilogaster*, *Pa. gaigeae* e *Pa. lutzii*, o estado modifica-se convergentemente passando a cobrir a face ventral do calo. Nos Leiuperinae, a modificação para cobertura da face ventral do calo é uma convergência quando comparada a *Rupirana* e parte de *Paratelmatoquinae*, ou sinapomorfia homoplásica dentro do grupo. Apenas no grupo *Ph. biligonigerus*, o caráter retorna ao estado ancestral,

sendo possivelmente uma sinapomorfia putativa (homoplasia comparada a Leptodactylinae e parte dos Paratelmatoquinae).

- Forma das superfícies das PEs (caráter 5)

A forma das superfícies para as espécies já descritas na literatura é variada. Kurabuchi (1993 e 1994) descreve principalmente superfícies cônicas e arredondadas dentre os animais analisados (Racophoridae e Ranidae), com exceção de *Hyla japonica* (Hylidae) que apresenta superfície plana, e *Rana ornativentris*, com superfície pontuda. Tyler e Lungershausen (1986) encontraram principalmente três formas de superfície: arredondada, para os Hylidae amostrados, e arredondada, cônica e em espinho para Lepodactylidae (categorizados de outras maneiras pelos autores). Apenas as superfícies em espinhos são semelhantes aos dos Leptodactylidae analisados no nosso trabalho. Pasqualina et al. (2012) encontraram superfícies arredondadas, e cônicas em Ranidae e em espinho em Bombinatoridae. Por fim, Luna et al. (2012) encontraram superfícies hemisférica e em forma de espinho (que seriam classificadas como arredondadas e cônicas, respectivamente, nesse trabalho) em Phyllomedusinae.

As superfícies apresentam várias formas em Leptodactylidae. A otimização aponta uma calosidade arredondada como o estado ancestral. No agrupamento Leptodactylinae + Paratelmatoquinae há a convergência para a superfície em cone de *Leptodactylus* e *Crossodactylodes* + *Paratelmatoquina* (ou sinapomorfias homoplásticas). Em *Scytrophrys* e *Rupirana* há a manutenção do estado ancestral arredondado. Em Leiuperinae, *Pseudopaludicola* e *Pleurodema* retém o estado plesiomórfico. Posteriormente em *Physalaemus* há uma modificação para superfície plana, exclusiva para o grupo (sinapomorfia putativa). Entretanto, no clado *Ph. cuvieri*, quatro espécies sofrem reversão para o estado plesiomórfico. As espécies que sofrem reversão pertencem a três grupos distintos sendo, portanto, homoplasias.

- Diferença de textura ápice-base (caráter 6):

A partir das micrografias foi determinada a diferença de textura ápice-base dos trabalhos já publicados. Em Kurabuchi (1993 e 1994), dentre as 8 espécies amostradas



apenas 2 não apresentaram diferenciação (*Hyla japônica* e *Rana ornativentris*). Em Tyler & Lungershausen (1986), não é possível determinar, pelas fotografias (devido à má qualidade) e a partir dos desenhos esquemáticos, se há diferença de textura entre as duas regiões. Nas fotografias de Pasqualina et al. (2012) texturas também são aparentemente uniformes ao longo de toda PE. Finalmente, em Luna et al. (2012), observa-se que algumas espécies apresentam diferença de textura e outras não.

A otimização desse caráter para as espécies descritas nesse trabalho sugere a ausência de diferentes texturas na PE como condição ancestral. Infelizmente, não foi possível a realização de MEV para *V. uranoscopa*, o que impossibilita algumas ponderações. Em Paratelmatochinae + Leptodactylinae, o aparecimento de texturas distintas em *Paratelmatochinus* pode ser considerada uma sinapomorfia putativa (homoplasia quando comparada aos Leiuperinae), com reversão em *Pa. poecilogaster*. Também não foi possível realizar MEV de *Pa. langonei*, pois se trata de um empréstimo sem permissão de dissecação. Em Leiuperinae a maioria dos indivíduos apresenta a forma plesiomórfica não diferenciada. Entretanto, a diferenciação de textura surge convergentemente 6 vezes, uma em *Pl diplolister*, duas no clado *Ph. signifer* e quatro no clado *Ph. cuvieri*. Essas características podem ser vistas como autapomorfias dentro de cada um dos grupos de espécies, de forma a auxiliar a identificação em combinação com outros caracteres. Pelos diversos surgimentos independentes, o caráter não parece informativo para os Leiuperinae.

#### - Especializações de membrana (caráter 9)

Descrições de especializações de membrana podem ser encontradas em todos os trabalhos publicados consultados. Em Kurabuchi (1993), *Pelophylax porosus* é descrito como possuindo processos irregulares, com margens bem definidas e achatadas, saindo radialmente do topo da projeção. Em *Rana ornativentris*, *R. nigromaculata* e *R. rugosa* são encontrados microprocessos curtos e em forma de bastão, porém de extremidades diferentes (em ventosa ou achatada). Em Kurabuchi (1994), *Hyla japonica* é descrita possuindo pequenas protuberâncias colunares com extremidades achatadas ou ligeiramente côncavas. Já *Racophorus schlegelii* possui protuberâncias em forma de folha com hastes apicais que se projetam das superfícies celulares no topo das

projeções. E as duas espécies do gênero *Buergeria*, possuem protuberâncias acessórias em forma de ventosas com variações de tamanho. A partir das descrições de Tyler e Lungershausen (1986) e interpretação dos desenhos, os Hylidae analisados podem apresentar PEs com membranas celulares especializadas em superfície lisa (em *Ranoidea*), ou especializadas em roseta ou papila (em *Litoria*). Para Leptodactylidae, o mesmo ocorre, com espécies exibindo superfície celular lisa, em rosetas, papilas, elevações cônicas, processos alares e processos radiais. Nas descrições de Pasqualina et al. (2012) os representantes da família Ranidae apresentam especializações de membrana no topo das PEs, descritas como microprocessos. Em Bombinatoridae, a especialização das membranas é de superfície lisa. Luna et al. (2012) caracterizam a superfície da PE como ornamentada de múltiplos processos com disposições distintas (em *Agalychnis*, *Phyllomedusa* e *Phasmahyla*), ou como células achatadas (em *Cruziophyla*, *Phrynomedusa* e uma espécie de *Phasmahyla*). A grande similaridade dos tipos de especialização de membrana dentro dos gêneros nos variados estudos sugere que esse seja um caráter útil para uso em análises filogenéticas.

A otimização não foi capaz de recuperar o estado ancestral para os Leptodactylidae, provavelmente devido a falta de caracterização para *V. uranoscopa*. A superfície celular com aglomerados e lâminas curtas com pequenas projeções é uma sinapomorfia putativa de Leiuperinae. Em *Pleurodema*, há a modificação desse estado para folhas alongadas com projeções sobre toda superfície (possivelmente uma sinapomorfia putativa para o gênero). Em Leptodactylinae + Paratelmatoquinae, a superfície celular lisa foi apontada como caráter sinapomórfico, sendo, portanto plesiomorfias em *Crossodactilodes* e *Leptodactylus*. Em Paratelmatoquinae o caráter apresenta várias transformações. Em *Rupirana* se modifica em grandes pedúnculos, o que pode ser uma sinapomorfia putativa para o gênero (mais espécies precisam ser analisadas). *Paratelmatoquina* apresenta certa diversidade de estados e exatamente por isso, os estados ancestrais para grande parte dos agrupamentos de espécies são ambíguos. *Pa. lutzii* apresenta a superfície modificada em dois tipos de textura no ápice, uma autapomorfia putativa, provavelmente devido a sua ausência de queratinização. A modificação de *Pa. cardosoi* também é única e pode ser uma autapomorfia putativa. *Pa. poecilogaster* e *Pa. gaigeae*, apresentam PEs distintas, mas com arranjos semelhantes de disposição (grande projeção central ornamentada com projeções menores ao redor), o

que pode ser uma sinapomorfia putativa para as duas espécies irmãs. Por fim, a forma e padrão encontrado em *Scytrophrys* são aparentemente uma sinapomorfia putativa para o gênero.

- Tamanho dos eixos das projeções em vista dorsal e espaçamento

O tamanho e espaçamento das PEs se sobrepõem nas diferentes gêneros e espécies analisadas. Embora algumas medidas de certas espécies se destaquem, não há aparente correlação filogenética. Outros métodos podem ser realizados, como PCA e discriminante, para se explorar a dinâmica das distribuições das medidas dentro da família.

- História natural

Alguns trabalhos sugerem que a forma e posicionamento das calosidades variam de acordo com o tipo de ambiente usado para o amplexo – aqueles realizados na água (e sujeitos a turbulência) requereriam calosidades mais robustas que os terrestres (Duelman & Trueb 1986, Kurabuchi 1994) e de acordo com seu local de encaixe na fêmea (Kurabuchi 1993). Por outro lado, Luna et al. (2012) propuseram que essas hipóteses carecem de evidências, destacando que os Phyllomedusinae analisados, mesmo possuidores de amplexo terrestre, apresentam calosidades mais desenvolvidas e robustas que muitas espécies de amplexo aquático.

Os Leptodactylidae possuem uma grande variedade de modos reprodutivos, de aquáticos a terrestres (Haddad & Prado 2005). Ainda assim, a grande maioria desova em poças naturais ou produzidas, com fluxo d'água lento (Haddad & Prado 2005, Fouquet et al. 2013) o que limitaria a diversidade nas calosidades. Entretanto, observamos uma grande variação, de espinhos (*Leptodacylus* e *Crossodactylodes*) a intumescências desprovidas de queratinização (*Pa. lutzii*). Em *Physalaemus* existem vários modos reprodutivos (Haddad & Prado 2005), que não se refletem na estrutura da calosidade, de forma geral bastante conservada. *Pa. poecilogaster* tem amplexo e desova terrestres (Haddad & Prado 2005), mas possui calosidade mais robusta que todos os Leiuperinae (modos principalmente aquáticos). Esses são apenas exemplos que contrapõe a hipótese de muitas maneiras. Quanto à localidade onde o macho se prende

ao corpo da fêmea, todas as espécies analisadas têm amplexo axilar. Essa invariabilidade também deveria limitar a diversidade das calosidades segundo essa hipótese, o que de fato não ocorre. Portanto, nossos dados não corroboram essas hipóteses, assim como os Luna et al. (2012), de maneira que outros fatores devem influenciar a forma das calosidades.

## 5.2 Histologia

### - Epiderme

Das espécies descritas nesse trabalho, grande parte tem epiderme da calosidade semelhante, em estrutura, à encontrada na literatura, uma epiderme tortuosa com projeções e reentrâncias, e estrato córneo com queratina escura. Quanto a esse aspecto tortuoso diferem *L. petersii*, *V. uranoscopa* e *C. Itambé*, que apresentam epitélio retilíneo, sem projeções. *Pa. lutzii*, embora apresente epitélio tortuoso, possui reentrâncias mais suaves na superfície externa. Quanto à queratinização (caráter 4), *V. uranoscopa*, e *Ph. rupestris* tem estrato córneo não escurecido (muito semelhante às porções laterais das PEs nas demais espécies), indicando uma queratina provavelmente menos endurecida. Embora seja aparentemente menos endurecida, seu aspecto é compacto, sem visibilidade das células individualmente. Em *Pa. lutzii*, a camada mais apical de células da calosidade é distinta daquelas encontradas em outras espécies (muito semelhante à encontrada nas interrupções quando a calosidade é dividida) e pode ser uma autapomorfia para a espécie. As células são cúbicas ou retangulares (com maior eixo lateral), de citoplasma claro, podendo ser individualizadas e muitas possuem núcleo achatado, condensado e picnótico no mesmo sentido do maior eixo. Esse tipo celular túrgido se assemelha muito a células de descamação. Tanto em *V. uranoscopa*, quanto em *Pa. lutzii*, parece provável que essa seja realmente a condição em que a calosidade nupcial se apresenta no ambiente natural, devido à disponibilidade de grande número de espécimes disponíveis. Em *Ph. rupestris*, entretanto, uma maior amostragem é necessária para confirmação da ausência queratinização escura no estrato córneo.

O número de camadas formadoras da epiderme foi aproximadamente constante, quatro acima da região apical da papila para a grande maioria das espécies. Alguns gêneros, entretanto, apresentaram maior número, cinco em *Paratelmatoobius*, e seis em *Leptodactylus*, *Crossodactylodes* e *Vitreorana*. Quando comparados à literatura, Luna et al. (2012) descrevem como cinco o número de camadas em Phyllomedusinae, e Kaptan & BolKent apontam oito camadas em *Pelophylax ridibundus*. Não podemos hipotetizar um estado ancestral para os Leptodactylidae com as informações conhecidas. Entretanto, parece provável que em Leiuperinae, quatro camadas de células sejam o estado ancestral para o grupo. Não podemos analisar devidamente a possível evolução do caráter para os Centrolenidae, Leptodactylinae e Paratelmatoobinae devido à baixa amostragem nos grupos. Talvez o número de camadas possa ser um caráter interessante para o grupo na separação de gêneros, de forma que mais espécies dos grupos pouco amostrados devem ser analisadas.

A primeira camada do estrato germinativo (estrato basal) de todas as espécies apresenta células possuindo uma série de pequenas projeções em direção à derme. Esse aumento na área de contato provavelmente auxilia no ancoramento e resistência a trações sofridas pela calosidade. Entretanto, duas espécies se destacam por apresentar projeções que podem ser vistas mesmo em aumento intermediário (40x, enquanto as das demais espécies só podem ser vistas em 100x), *L. petersii* e *C. itambe*. Nessas espécies as calosidades são formadas por espinhos e não formam interdigitações entre derme e epiderme. Esse aumento no tamanho das projeções pode ter um efeito compensatório à formação de papilas. Na literatura nenhum dos autores faz menção a essa característica e devido à baixa qualidade das fotografias, não é possível se observar as projeções. Apenas em Kaptan & BolKent (2014) as projeções são visíveis, também em maior aumento e com derme papilar em *Pe. ridibundus*. Apesar de aparentemente convergentes em tamanho, a forma dessas projeções é distinta em *C. itambe* e *L. petersii*. Enquanto o primeiro apresenta projeções mais espessas, as do segundo são afiladas. Portanto, essas diferenças entre os tipos de projeção podem indicar um caráter informativo para os Leptodactylidae, distinguindo os gêneros *Crossodactylodes* e *Leptodactylus* dentre os demais e entre si. Obviamente como só foi realizada a histologia de duas espécies, outras devem ser analisadas sob essa perspectiva. Apesar de outras características da epiderme serem também notadas a partir de histologia (aspecto



geral da superfície e ornamentações da queratina no estrato córneo), para uma descrição mais detalhada é recomendada a MEV.

#### - Derme

Os componentes dérmicos não aparentam sofrer grandes variações entre as espécies estudadas. Entretanto a estrutura da derme é distinta em *L. petersii* e *C. itambe* já que ambas não apresentam papilas, nem GNs (caráter 3, convergência entre Leptodactylinae e *Crossodactylodes*), diferentemente das demais espécies desse estudo e outras descritas na literatura. Apenas Luna et al. (2012) fazem menção que talvez *Hyla japonica* (Kurabuchi 1994), não apresente derme papilar. Isto se deve, porque não há qualquer fotografia histológica ou menção do autor sobre essa característica para a espécie no trabalho. A adesão ao epitélio já foi discutida anteriormente e a presença de GNs provavelmente influencia a altura do estrato esponjoso, proporcionalmente reduzidos em *L. petersii* e nos vales entre os espinhos em *C. itambe*. Além disso, comparando-se os espinhos entre as espécies, a diferença estrutural é notável. Enquanto em *L. petersii* o cerne do espinho é ósseo, em *C. itambe* é conjuntivo frouxo. O suporte ósseo aparentemente substitui ancoramento fornecido pela derme, permitindo a diminuição de sua espessura. Na ausência dele, outra estratégia se faz necessária. Grandes quantidades de fibras de colágeno são encontradas em ambos os estratos da derme de anuros e parecem ser os principais responsáveis pela resistência a trações (Schwinger et al. 2001). Portanto, um aumento na espessura desses estratos pode fornecer o suporte necessário para a integridade do espinho.

As GNs encontradas neste trabalho são semelhantes morfológicamente às encontradas por Kaptan & Bolkent (2014), Kaptan & Murathanoglu (2008), Luna et al. (2012), Thomas et al. (1993), Kao et al. (1994) e Epstein & Blackburn (1996). Embora descritas de maneiras distintas nos trabalhos citados, como alveolares ou elípticas a esféricas, não apresentam grandes diferenças entre si. Aqui as descrevemos como tubulosas em maior consonância com a descrição de forma elíptica de Kaptan & Bolkent (2014) e Kaptan & Murathanoglu (2008) e mais adequadamente considerando-se os cortes menos oblíquos. As GNs de *V. uranoscopa*, *R. cardosoi* e *Pa. poecilogaster* são distintas das demais espécies. Além de maiores, as GNs da primeira estão mais

agrupadas (e são aparentemente alveolares), enquanto na segunda são menores e mais espaçadas entre si e na terceira os adenômeros são mais baixos e o lúmen glandular mais amplo. Entretanto, uma amostragem maior da segunda espécie se faz necessária, já que o estado de atividade das glândulas pode estar relacionado ao período reprodutivo (Kaptan & Bolkent 2014 e Kaptan & Murathanoglu 2008).

Quanto ao tipo de secreção das GNs, os grânulos são semelhantes aos de Kaptan & Bolkent (2014), redondos, bem definidos e numerosos. Nos demais trabalhos as fotografias não possuem resolução para que essa observação seja feita. Diferentemente dos demais trabalhos (Kaptan & Bolkent 2014, Kaptan & Murathanoglu 2008, Luna et al. 2012, Thomas et al. 1993 e Epstein & Blackburn 1996) que encontraram GNs com forte positividade ao PAS, semelhantes às demais glândulas mucosas, apenas uma fraca reatividade foi observada para quase todas as espécies nesse estudo. As exceções foram *Pa. poecilogaster*, *Pa. lutzii* e *R. cardosoi* (Paratelmatoquinae) que apresentam uma coloração uniforme e forte, *Ph. erythros* com coloração uniforme intermediária e os *Physalaemus* e *Pleurodema* cujas porções apicais de células ocasionais se coraram fortemente, indicando a presença de mucossubstâncias neutras em maior quantidade. Esse tipo particular de coloração em células ocasionais também é encontrado em *Ph. lisei*, *Ph. biligonigerus* e *Pleurodema* para AB 2.5 e em *Pleurodema* para AB 0.5, indicando a presença de mucossubstâncias sulfatadas e carboxiladas respectivamente, enquanto as demais espécies não reagiram a coloração. O mesmo padrão também foi notado por Kaptan & Bolkent (2014), Kaptan & Murathanoglu (2008) e Thomas et al. (1993) em animais cujas calosidades estavam em processo de regressão. Em Epstein & Blackburn (1996), as glândulas não apresentaram positividade para AB 1,0 e 2.5, indicativo de que todos os indivíduos estavam em período pleno de atividade reprodutiva, assim como a grande maioria dos indivíduos aqui analisados. Pode-se propor semelhantemente, que o tipo de secreção glandular varie ao longo do ano de acordo com a dinâmica fisiológica reprodutiva, ao menos nessas espécies. Apenas Luna et al. (2012) encontraram GNs coradas uniformemente por AB 2.5 e sugeriram a presença de mucossubstâncias ácidas como uma sinapomorfia putativa de Phyllomedusinae. Levando-se em consideração a particularidade das colorações de AB e a fraca positividade ao PAS, as secreções parecem se enquadrar na classificação de mucoproteínas neutras como proposto por Thomas et al. (1993) e corroborado por

Kaptan & Bolkent (2014), Kaptan & Murathanoglu (2008) e Epstein & Blackburn (1996), embora não tenhamos realizado histoquímica de proteínas. Todavia, como para os testes de mucosubstâncias as reações foram fracas ou negativas (principalmente para PAS) em contraste com a literatura, é possível que este seja um tipo de secreção diferente e exclusivo dos Leptodactylidae.

#### - Função

Com relação à funcionalidade da calosidade, Willaert et al. (2013) propuseram pela semelhança da secreção (composição proteica) com hormônios de glândulas hedônicas de salamandras e pelas marcas axilares do amplexo, que ela seria feromonal, disponibilizada diretamente na corrente sanguínea da fêmea pela abrasão da pele. Embora a hipótese seja pertinente e pareça também ocorrer para a grande maioria das espécies analisadas (apesar de não termos observado quaisquer tipos de marcas nas fêmeas, talvez devido à mudança do aspecto da pele fixada), algumas perguntas sobre funcionalidade ainda persistem para serem respondidas. Para as espécies com calosidade em espinhos e desprovidas de GNs, *Leptodactylus* e *Crossodactylodes*, é mais interessante a proposição de Duelman & Trueb (1986) e Wells (2007), que sugere uma otimização do amplexo e combate entre machos. Mesmo nas demais espécies, a otimização e maior firmeza, além da abrasão, devem ocorrer pelo aumento da aspereza nos dedos.

Nas espécies que não possuem na calosidade uma queratinização áspera e abrasiva, outras funcionalidades parecem plausíveis. Taylor (1920) e Inger (1954) notaram que as glândulas peitorais de Microhylidae secretavam substâncias pegajosas e Fitch (1956) propôs que elas seriam glândulas nupciais de adesão, descritas posteriormente histologicamente para diversas espécies (ver Siegel et al. 2008). Suas funcionalidades estavam diretamente ligadas à otimização e firmeza do amplexo a partir da cola secretada. Essa hipótese não parece provável para *Ph. rupestris*, *V. uranoscopa* e *Pa. lutzii*. Primeiramente porque os animais vivos em campo não liberam, aparentemente, qualquer substância viscosa. E também devido a forte coloração para

PAS encontrado nas glândulas adesivas, diferentemente dessas espécies. Wabnitz et al. (1999) descreveram o primeiro feromônio produzido por anuros em *Litoria splendida*, um peptídeo solúvel em água e produção aumentada em época reprodutiva. Apenas fêmeas dessa espécie em contato com a secreção de glândulas da cabeça dos machos, se deslocavam para a sua fonte. Apesar de provavelmente a composição da secreção das espécies do presente estudo ser proteica, a sua forma de ação não parece ser a mesma de *Litoria*. As espécies cantam fora d'água em proximidade de poças (embora um direcionamento para o local do macho não pode ser descartado) e as glândulas são pequenas (embora uma alta concentração do feromônio possa suprir esse viés). Por fim, é possível que as secreções dessas espécies ajam da mesma maneira que as de espécies de calosidade queratinizada. A superfície ventral e lateral da pele dos anuros é mais permeável e vascularizada que a dorsal (Toledo & Jared 1993) e apenas a aposição do dedo (e, portanto do feromônio) nas axilas, poderia surtir efeitos de aceitação e estimulação das fêmeas. A abrasão promovida pela queratina auxiliaria na rapidez da entrega da substância e duração do amplexo.

## 6. Conclusão

Com as descrições realizadas nesse trabalho e o apontamento de diversos caracteres, ressalta-se a importância de observações minuciosas e sob diversos níveis de detalhamento em estruturas que podem ser negligenciadas nas descrições gerais de espécies. Mesmo aspectos de variação morfológica, que seriam mais facilmente notados, apresentaram grande variação compondo diversos caracteres, ressaltando a importância de estudos mais detalhados de porções específicas.

Um modelo de descrição foi gerado apontando as porções variáveis para Leptodactylidae e *V. uranoscopa* que pode servir de exemplo para descrições posteriores dentro da família e entre outras famílias. Reuniu-se uma grande quantidade de descrições para Leiuperinae e Paratelmatoquinae, que podem ser usadas para comparações futuras.

Aspectos morfológicos compõem o maior número de caracteres observados. Embora apresentem certa variação intraespecífica os caracteres se mantiveram de uma maneira geral. Tanto caracteres topológicos quanto de microestrutura apresentaram relevância aparente separando gêneros ou grandes grupos monofiléticos nas otimizações. Quanto aos caracteres histológicos, apesar de poucos terem sido elencados, outros potenciais caracteres são promissores como o tipo glandular (e provavelmente de secreção), as projeções da camada basal em direção à derme e, ainda, a diferenciação dos tipos de ausência de queratinização escura (queratina não escura em *Ph. rupestris* e *V. uranoscopa* e ausência de queratina em *Pa. lutzii*).

O estudo de calosidades nupciais parece promissor na montagem de filogenias. Foram elencados diversos caracteres que podem auxiliar nas elucidações das relações de parentesco para de Leiuperinae e Paratelmatoquinae. Amostragem de outros Leptodactylinae e grupos irmãos de Leptodactylidae são essenciais para o entendimento da evolução dessa estrutura dentro da família. A exaustão da amostragem de espécies para os gêneros analisados também é importante, para que incertezas devido à ausência nas otimizações e as análises de hábitos e modos reprodutivos sejam feitas adequadamente. Além disso, se mostra claro nos resultados a ineficácia do uso de apenas um grupo externo nas otimizações, com as reconstruções dos estados ancestrais



quase sempre ambíguas. Outros Hyloidea devem ser analisados e inseridos na matriz para melhor entendimento da evolução da calosidade nupcial em Leptodactylidae.

A literatura ainda escassa sob diversas abordagens (histologia e ultraestrutura) e extremamente dispersa, principalmente para espécies do Novo Mundo, dificulta as comparações e elaboração de hipóteses, tanto para as otimizações, quanto para as funcionalidades das calosidades considerando a diversidade da biologia reprodutiva dos anuros. Estudos de comportamento, fisiológicos e bioquímicos são também de extrema importância no que diz respeito a corroborar as hipóteses feromonais das secreções glandulares e caracterização da dinâmica de estimulação da fêmea e dos compostos bioativos. Outras abordagens filogenéticas como a homologia entre o tipo de vias sensoriais de ativação e da composição das substâncias estimuladoras podem ser também utilizados e testados na confecção de filogenias mais abrangentes e completas.

## 7. Referencias bibliográficas

- ANTONIAZZI, M. M., NEVES, P. R., MAILHOFONTANA, L., RODRIGUES, T., JARED, C. 2013. Morphology of the parotoid macroglands in *Phyllomedusa* leaf frogs. **Journal of Zoology**. 291: 42–50.
- AZEVEDO R. A., SANTANA A. S. J, BRITO-GITIRANA L. 2006. Dermal collagen organization in *bufo ictericus* and in *rana catesbeiana* integument (Anuran, Amphibian) under the evaluation of laser confocal microscopy. **Micron**. 37: 223–228.
- BARRIONUEVO, J. S., 2016. Frogs at the summits: phylogeny of the andean frogs of the genus *Telmatobius* (Anura, Telmatobiidae) based on phenotypic characters. **Cladistics**. No prelo. Disponível em <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cla.12158/abstract>.
- BLAYLOCK L. A., RUIBAL R. AND PLATT-ALOIA K. 1976. Skin structure and wiping behavior of phyllomedusine frogs. **Copeia**. 283–295.
- BLOTTO, B. L., NUÑEZ, J. J., BASSO, N. G., ÚBEDA, C. A., WHEELER, W. C., FAIVOVICH, J. 2013. Phylogenetic relationships of a patagonian frog radiation, the *Alsodes* + *Eupsophus* clade (Anura: Alsodidae), with comments on the supposed paraphyly of *Eupsophus*. **Cladistics**. 29: 113–131.
- CANDIOTI, M. F., V., ALTIG, R. (2010). A survey of shape variation in keratinized labial teeth of anuran larvae as related to phylogeny and ecology. **Biology Journal of the Linnean Society**. 101: 609–625.
- CASSINI, C. S., CRUZ C. A. G. AND CARAMASCHI, U. 2010. Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae). **Zootaxa**. 2491: 1–33.

- CATENAZZI, A., VON MAY, R. 2011. New species of marsupial frog (Hemiphractidae: *Gastrotheca*) from an isolated montane forest in southern Peru. **Journal of Herpetology**. 45: 161–166.
- CATENAZZI A., GARCIA, V. V., LEHR, E. 2015. A new species of *Telmatobius* (Amphibia, Anura, Telmatobiidae) from the Pacific slopes of the Andes, Peru. **Zookeys**. 480: 81-95.
- CISNEROS-HEREDIA, D. F., MCDIARMID, R. W. 2007. Revision of the characters of Centrolenidae (Amphibia: Anura: Athesphatanura), with comments on its taxonomy and the description of new taxa of glassfrogs. **Zootaxa**. 1572: 1–82.
- CUEVAS, C. C. 2008. A new species of the genus *Alsodes* (Anura: Neobatrachia) from the *Nothofagus* forest, coastal range, southern Chile, identified by its karyotype. **Zootaxa**. 1771: 43–53.
- DE SÁ, R. O., GRANT, T., CAMARGO, A., HEYER, W. R., PONSSA, M. L., STANLEY, E., 2014. Systematics of the neotropical genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae): phylogeny, the relevance of non-molecular evidence, and species accounts. **South American Journal of Herpetology**. 9: 1–100.
- DUELLMAN, W.E., TRUEB L. 1994. **Biology of Amphibians**. New York, McGraw-Hill.
- EPSTEIN, M. S., BLACKBURN, D. G. 1997. Histology and Histochemistry of androgen-stimulated nuptial pads in the leopard frog, *Rana pipens*, with notes on nuptial gland evolution. **Canadian Journal of Zoology**. 74: 472–477.
- FARQUHAR, M.G., PALADE, G.E. 1964. Functional organization of amphibian skin. **The Journal of Cell Biology**. 51: 569–577.
- FITCH, H. S. 1956. A field study of the Kansas ant-eating frog, *Gastrophryne olivacea*. **University of Kansas publications, Museum of Natural History**. 8: 275–306.
- FLORES, G. 1985. A New *Centrolenella* (Anura) from Ecuador, with comments on nuptial pads and prepollical spines in *Centrolenella*. **Journal of Herpetology**. 19: 313–320.

- FORBES, M. S., DENT, J. N., SINCHAS, C. A. 1975. The Developmental Cytology of the Nuptial Pad in the Red-spotted newt. **Developmental Biology**. 46: 56–78.
- FOUQUET, A.; BLOTTO, B. L.; MARONNA, M. M.; VERDADE, V. K.; JUNCÁ, F. A.; DE SÁ, R. & RODRIGUES, M. T. 2013. Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 67: 445–457.
- GOIN C. J., GOIN O. B. 1962. **Introduction to Herpetology**. San Francisco: WH Freeman.
- GONIAKOWSKA-WITALMSKA, L. & KUBICZEK, U. 1998. The structure of the skin of the tree frog (*Hyla arborea arborea* L.). **Annals of Anatomy**. 180: 237–246.
- GRANT, T.; FROST, D. R.; CALDWELL, J. P.; GAGLIARDO, R.; HADDAD, C. F. B.; KOK, P. J. R.; MEANS, D. B.; NOONAN, B. P.; SCHARGEL, W. E.; WHEELER, W. C. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). **Bulletin of the American Museum of Natural History**. 299: 1–262.
- HADDAD, C. F. B., SAWAYA, R. J. 2000. Reproductive modes of Atlantic forest hylid frogs: a general overview and the description of a new mode. **Biotropica**. 32: 862–871.
- HEYER, W. R. 1974. Relationships of the *marmoratus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. **Contributions in Science**. 253: 1–46.
- HEYER, W. R. 1975. A preliminary analysis of the intrageneric relationships of the frog family Leptodactylidae. **Smithsonian Contributions to Zoology**. 199: 1–55.
- INGER, R. I. 1954. Systematics and zoogeography of Phillipine Amphibia. **Fieldiana Zoology**. 33: 181–531.
- JAMIESON, B. G. M. 2003. **Reproductive Biology and Phylogeny of Anura**. Science Publisher, USA, 2003.

- JARED, C., ANTONIAZZI, M. M., JORDÃO, A. E. C., SILVA, J. R. M. C., GREVEN, H., RODRIGUES M. T., 2009. Paratoid macroglands in toad (*Rhinella jimi*): Their structure and functioning in passive defence. **Toxicon**. 54: 197–207.
- KAO, Y. H; ALEXANDER, P. S.; YANG, V. V. C.; YU, J. Y. L. 1994. Annual Patterns of Nuptial Pad and Vocal Sac Development in the Male Chinese Bullfrog (*Rana rugulosa* Wiegmann). **Zoological Studies**. 33: 153–159.
- KAPTAN, E.; BOLKENT, S. 2014. Seasonal lectin binding variations of thumb pad in the frog (*Pelophylax ridibundus*). **Journal of morphology**. 275: 76–86.
- KAPTAN, E.; MURATHANOGLU, O. 2008. Annual Morphological Cycles of Testis and Thumb Pad of the Male Frog (*Rana Ridibunda*). **The anatomical record**. 291: 1106–1114.
- KURABUCHI, S. 1993. Fine Structure of Nuptial Pad Surface of Male Ranid Frogs. **Tissue and Cell**. 25: 589–598.
- KURABUCHI, S. 1994. Fine structures on the surface of nuptial pads of male Hylid and Rhacophorid frogs. **Journal of Morphology**. 219: 173–182.
- LEV, R.; SPICER, S. S. 1964. Specific Staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**. 12: 309.
- LOURENÇO, L. B., BACCI Jr., M., MARTINS, V. G., RECCO-PIMENTEL, S. M., HADDAD, C. F. B. 2007. Molecular phylogeny and karyotype differentiation in *Paratelmatobius* and *Scythrophrys* (Anura, Leptodactylidae). **Genetica**. 132: 255–266.
- LUNA, M. C.; TABOADA, C.; BAETA, D.; FAIVOVICH, J. 2012. Structural Diversity of Nuptial Pads in Phyllomedusinae (Amphibia: Anura: Hylidae). **Journal of Morphology**. 273: 712–724.
- LYNCH, J. D. & RUIZ-CARRANZA, P. M. 1996. A Remarkable New Centrolenid Frog From Colombia With a Review of Nuptial Excrescences in the Family. **Herpetologica**. 52: 525–535.
- MADDISON, W. P. AND D.R. MADDISON. 2015. Mesquite: a modular system for



evolutionary analysis. Version 3.10 <http://mesquiteproject.org>.

- MCMANUS, J. F. A. 1946. Histological demonstration of mucin after periodic acid. **Nature**. 158: 202.
- MELZER, S., CLERENS, S., BISHOP, P. J. 2013. Skin gland morphology and secretory peptides in naturalized *Litoria* species in New Zealand. **Journal of Herpetology**. 4: 565–574.
- MOWRY, R. W. 1956. Alcian blue technics for the histochemical study of acid carbohydrates. **Journal of Histochemical and Cytochemical**. 4: 407.
- NASCIMENTO, L. B., CARAMASCHI, U., CRUZ, C. A. G., 2005. Taxonomic review of the species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with revalidation of the genera *Engystomops* Jiménez-de-La-Espada, 1872 and *Eupemphix* Steindachner, 1863 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Arquivos do Museu Nacional**. 63: 297–320.
- NIXON, C. K. 1999. WinClada ver. 1.0000. published by the author, Ithaca, NY, USA.
- NOBLE G. K. 1931. **The Biology of the Amphibia**. New York: McGraw-Hill. xiv, 577p.
- PASQUALINA K.; PAPAEVANGELUOU, E.; KLADISIOS, N. 2012. A scanning electron microscopic study of the surface morphology of nuptial pads in male amphibians (Genus: *Bombina*, *Pelophylax*, *Rana*). **Acta Herpetologica**. 7: 81–90.
- PELOSO, P. L. V, FAIVOVICH, J., GRANT, T., GASPARINI, J., HADDAD, C., AND LUIZ, J. 2012. An extraordinary new species of *Melanophryniscus* (Anura, Bufonidae) from southeastern Brazil. **American Museum Novitates**. 3762: 1–31.
- PRATES, I., ANTONIAZZI, M. M., SCIANI, J. M., PIMENTA, D. C., TOLEDO, L. F., HADDAD, C. F. B., JARED, C. 2012. Skin Glands, Poison and Mimicry in Dendrobatid and Leptodactylid Amphibians. **Journal of Morphology**. 273: 279–290.

- PYRON, R. A., WIENS, J. J. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders and caecilians. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 61: 543–583.
- SABAJ-PÉREZ, M. H. 2010. Standard symbolic codes for institutional resource collections in herpetology and ichthyology; an Outline Reference. Version 1.5 (4 Oct 2010). **American Society of Ichthyologists and Herpetologists**. Available at: <http://www.asih.org/>.
- SIEGEL, D. S., SEVER, D. M., SCHRIEVER, T. A., CHABARRIA, R. E. 2008. Ultrastructure and histochemistry of the adhesive breeding glands in male *Gastrophryne carolinensis* (Amphibia: Anura: Myrobatrachidae). **Copeia**. 4: 877–881.
- SCHWINGER, G.; ZANGER, K.; GREVEN, H. 2001. Structural and mechanical aspects of the skin of *Bufo marinus* (Anura, Amphibia). **Tissue & Cell**. 33: 541–547.
- TAYLOR, E. H. 1920. Philippine Amphibia. **Philippine Journal of Science**. 16: 213–359.
- TEIXEIRA-JR, M., RECODER, R. S., AMARO, R. C., DAMASCENO, R. P., CASSIMIRO, J., RODRIGUES, M. T. 2013. A new *Crossodactylodes* Cochran, 1938 (Anura: Leptodactylidae: Paratelmatobiinae) from the highlands of the Atlantic Forests of southern Bahia, Brazil. **Zootaxa**. 3702: 459–472.
- THOMAS, E. O., TSANG, L., LICHT, P. 1993. Comparative Histochemistry of the Sexually Dimorphic Skin Glands of Anuran Amphibians. **Copeia**. 1993: 133–143
- TOLEDO R. C, JARED C. 1993. Cutaneous adaptations to water balance in amphibians. **Comparative Biochemistry Physiology**. 105: 593–608.
- TOLEDO, R. C., JARED, C. (1995): Cutaneous granular glands and amphibian venoms. **Comparative Biochemistry Physiology**. 111: 1–29
- TYLER, M. J., LUNGERSHAUSEN K. 1986. The Ultrastructure of Male Nuptial Pads in some Australopapuan frogs. **Transactions of The Royal Society of South Australia**. 110: 37–42.

- VAN WYK, J. H., POOL, E. J., LESLIE, A. J. 2002. The Effects of Anti-Androgenic and Estrogenic Disrupting Contaminants on Breeding Gland (nuptial pad) Morphology, Plasma Testosterone Levels, and Plasma Vitellogenin Levels in Male *Xenopus Laevis* (African clawed frog). **Archives Environmental Contamination Toxicology**. 44: 247–256.
- VERDADE, V. K. 2005. Relações filogenéticas entre as espécies dos gêneros *Cycloramphus* Tschudi, 1838 e *Zachaenus*, Cope 1866 (Anura Leptodactylidae). **Ph.D. Thesis**. Universidade de São Paulo. São Paulo, Brazil.
- WARBURG, M. R., ROSENBERG, M., ROBERTS, J. R., HEATWOLE, H. 2000. Cutaneous glands in the Australian hylid *Litoria caerulea* (Amphibia, Hylidae). **Anatomy and Embryology**. 201: 341–348.
- WABNITZ, P. A., BOWIE, J. H., TYLER, M. J., WALLACE, J. C., SMITH, B. P. 1999. Animal behavior: Aquatic sex pheromone from a male tree frog. **Nature**. 401: 444–445.
- WELLS, K. D. 2007. **The ecology and Behavior of Amphibians**. The university of Chicago Press.
- WILLAERT, B., BOSSUYT, F., JANSSENSWILLEN, S., ADRIAENS, D., BAGGERMAN, G., MATTHIJS, S., PAUWELS, E., PROOST, P., RAEPSAET, A., SCHOOF, L., STEGEN, G., TREER, D., VAN HOOREBEKE, L., VANDEBERGH, W., VAN BOCXLAER, I. 2013. Frog nuptial pads secrete mating season-specific proteins related to salamander pheromones. **The Journal of Experimental Biology**. 216: 4139–4143.

**Anexo 1.**

**Tabela 2. Espécimes examinados (H, histologia/histoquímica; MEV, microscopia eletrônica de varredura).**

<b>N</b>	<b>Tombamento</b>	<b>Espécie</b>	<b>Estado</b>	<b>Município</b>	
<b>4</b>	3576 (MEV)	<i>Physalaemus albonotatus</i>	Mato Grosso do Sul	Corumbá	
	3604				
	3624 (H)				
	5657 (H)				
<b>6</b>	4712	<i>Physalaemus kroyeri</i>	Bahia	Jacaraci	
	4806 (H)				
	4809				
	4816 (H)				
	4683 (MEV)				
	6163 (H)				
<b>9</b>	2561 (H)	<i>Physalaemus cuvieri</i>	Maranhão	São Luís	
	10666		Minas Gerais	Barão de Cocais	
	11132 (H)			Conceição do mato dentro	
	5044 (MEV)			Catas Altas	
	5243			Itacarambi	
	2354				
	7309 (H)				Buenópolis
	13802 (H)				Nova Lima
	12902 (H)				Simonésia
<b>4</b>	3736 (H)	<i>Physalaemus centralis</i>	Minas Gerais	Varginha	
	9720			Itaúna	
	9721			Buenópolis	
	7311 (H)				
<b>4</b>	7830 (MEV)	<i>Physalaemus cicada</i>	Minas Gerais	Belo Horizonte	
	7831				

	7834 (H)			
	4692 (H)		Bahia	Jacaraci
2	MCP-2767	<i>Physalaemus</i>	-	-
	MCP-158	<i>henselii</i>	-	-
5	10074 (H)	<i>Physalaemus</i>	Santa Catarina	Brusque
	10105 (H)	<i>nanus</i>		Indaial
	4610 (H)			Florianópolis
	4612 (MEV)			
	4616			
5	2713 (H)	<i>Physalaemus</i>	São Paulo	Bertioga
	2714	<i>moreirae</i>		
	9475 (MEV)			Santo André
	9478 (H)			
	9505 (H)			
6	4939	<i>Physalaemus</i>	Bahia	Prado
	4960 (H)	<i>signifer</i>		
	4961 (MEV)			
	4962 (H)			
	5559 (H)			
8	9526	<i>Physalaemus</i>	Minas Gerais	Mariana
	9561	<i>crombiei</i>		
	11849 (H)			São Gonçalo do Rio Abaixo
	11912			
	13010 (H)		Espírito Santo	Santa Tereza
	13046 (H)			
	8233			Vitória
	8244			
8	4713	<i>Physalaemus</i>	Bahia	Jacaraci
	4754	<i>albifrons</i>		



	6147 (MEV)			Pindobaçu	
	6149 (H)				
	6154 (H)				
	6158				
	7475			Minas Gerais	Serranópolis de Minas
	7585 (H)			Alagoas	Arapiraca
3	2771 (H)	<i>Physalaemus marmoratus</i>	Minas Gerais	Curvelo	
	2772 (MEV)				
	2775 (H)				
4	15839 (H)	<i>Physalaemus biligonigerus</i>	Mato Grosso do Sul	Corumbá	
	15840 (H)				
	15841 (H)				
	15834 (MEV)				
3	MCP-5785	<i>Physalaemus riograndensis</i>	-	-	
	MCP-5788		-	-	
	MCP-5789		-	-	
7	13367	<i>Physalaemus rupestris</i>	Minas Gerais	Lima Duarte	
	13368 (H)				
	13369				
	13370				
	13371 (H)				
	13372 (H)			Rio Preto	
	13374				
7	16769	<i>Physalaemus deimaticus</i>	Minas Gerais	Morro do Pilar	
	16770				
	16771				
	16772				
	14905 (MEV)				
	14902 (H)			Jaboticatubas	

	14675 (H)			
6	14938	<i>Physalaemus erythros</i>	Minas Gerais	Barão de Cocais
	5561 (MEV)			
	5563 (H)			
	5564 (H)			Catas Altas
	14675			Ouro Preto
	14677			
1	1661 (H)	<i>Physalaemus gracilis</i>	Santa Catarina	São Domingos
4	2749 (MEV)	<i>Physalaemus evangelistai</i>	Minas Gerais	Santana do Riacho
	5587 (H)			
	5588 (H)			
	6440 (H)			Conceição do Mato Dentro
7	16699	<i>Physalaemus lisei</i>	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula
	16700			
	16701			
	16702 (H)			
	2675 (H)			
	2677 (MEV)			
	2678 (H)			
6	10175 (H)	<i>Physalaemus lateristriga</i>	Santa Catarina	São Bento do Sul
	10468 (H)			
	10469			
	9837			
	9853 (H)			
	9873 (MEV)			
4	9621 (H)	<i>Physalaemus maximus</i>	Minas Gerais	Ouro Branco
	9622 (H)			
	9652 (H)			

	9626 (MEV)			
3	6441 (H)	<i>Physalaemus orophilus</i>	Minas Gerais	Alvorada de Minas
	6442 (H)			
	8812 (MEV)			Morro do Pilar
3	2740 (H)	<i>Physalaemus olfersii</i>	São Paulo	Bertioga
	2741 (H)			
	2742 (H)			
2	13542 (H)	<i>Physalaemus feioi</i>	Minas Gerais	Simonésia
	2726 (H)			Araponga
5	6136 (H)	<i>Pleurodema diplolister</i>	Bahia	Pindobaçu
	6137 (H)			
	6240 (H)			Umburanas
	6241 (MEV)			
	6139			Pindobaçu
1	15356 (H)	<i>Pleurodema alium</i>	Minas Gerais	Grão Mogol
4	6725 (H)	<i>Pseudopaludicola mystacalis</i>	Minas Gerais	Januária
	6741 (H)			
	6745 (H)			
	6749			
4	5996 (H)	<i>Pseudopaludicola serrana</i>	Minas Gerais	Rio Pardo de Minas
	5996 (H)			
	11148 (H)			Conceição do mato dentro
	11149 (MEV)			
3	5649 (H)	<i>Physalaemus nattereri</i>	Mato Grosso do Sul	Corumbá
	12439 (H)		Minas Gerais	Ibiá
	2342 (H)			Uberlândia
4	5127	<i>Vitreorana</i>	Minas Gerais	Congonhas

	7689	<i>uranoscopa</i>		
	6512			Nova Lima
	13137 (H)			Congonhas
1	12685 (H)	<i>Leptodactylus petersii</i>	Maranhão	São Luís
6	4274	<i>Rupirana cardosoi</i>	Bahia	Mucugê
	7919 (MEV)			
	4256 (H)			
	4255 (H)			
	7916			
	7920			
1 3	13769	<i>Crossodactylode s bokermanni</i>	Espírito Santo	Castelo
	13767			
	14189 (MEV)			Santa Teresa
	14188			
	13774			Castelo
	14175			Santa Teresa
	14177			
	14174			
	14215			
	13791			
	13760			
	14178			
	14180			
8	14031 (H)	<i>Crossodactylode s itambe</i>	Minas Gerais	Santo Antônio do Itambé
	14032 (MEV)			
	13377			
	13375			
	11247			

	14035 (H)			
	11242			
	11249			
4	MZUSP 94624	<i>Paratelmatoobius</i>	Rio de Janeiro	Itatiaia
	MZUSP 94627	<i>lutzi</i>		
	MZUSP 94636 (H)			
	MZUSP 94628 (MEV)			
6	CFBH 3267 (H)	<i>Paratelmatoobius</i>	-	-
	CFBH 31094 (MEV)	<i>cardosoi</i>	-	-
	MZUSP 125007		São Paulo	São Bernardo do Campo
	MZUSP 125005			
	MZUSP 125003			
	MZUSP 125002			
4	MZUSP 137889	<i>Paratelmatoobius</i>	Paraná	Piraquara
	MZUSP 137888	<i>langonei</i>		
	MZUSP 137897			
	MZUSP 137893			
5	MZUSP 138661 (H)	<i>Paratelmatoobius</i>	São Paulo	E.E. Bananal
	MZUSP 138662 (MEV)	<i>gaigae</i>		
	MZUSP 138657			
	MZUSP 138658			
	MZUSP 138659			
3	UFMG 3238 (MEV)	<i>Paratelmatoobius</i>	São Paulo	Bertioga
	UFMG 3239	<i>poecilogaster</i>		
	UFMG 3240 (H)			
6	CFBH 6067 (H)	<i>Scytrophrys</i>	-	-
	CFBH 6069 (MEV)	<i>sawayae</i>	-	-
	CFBH 5443		-	-
	CFBH 3188		-	-



	CFBH 3189		-	-
	CFBH 3187		-	-
2	CFBH 3390 (MEV)	<i>Scytrophrys</i>	-	-
	CFBH 5287 (H)	<i>arijui</i>	-	-

## Anexo 2.

Tabela 3. Medidas morfológicas

Espécie	Densidade Média ± sd	Densidade Max-Min	Maior eixo µm	Espaçamento µm	N cél
<i>P. nattereri</i>	755.05 ± 89.09	851.85–76.47	18.88–25.81	1.01–7.6	2–7
<i>P. albifrons</i>	1468.42 ± 72.70	1535.71–1391.30	30.54–46.68	2.54–7.04	3–5
<i>P. albonotatus</i>	2558.82 ± 414.90	3000–2176.47	19.15–28.29	5.67–6.68	2–6
<i>P. alium</i>	1325.94 ± 175.06	1481.41–1136.36	-	-	-
<i>P. biligonigerus</i>	2659.091 ± 379.62	3000–2250	13.13–22.77	2.95–7.56	2–9
<i>P. cardosoi</i>	823.81 ± 125.26	909.09–680	31.64–35.88	0.8–1.29	-
<i>P. centralis</i>	1232.47 ± 147.009	1400–1125	-	-	-
<i>P. cicada</i>	883.16 ± 69.951	952.38–812.5	13.6–20.15	1.91–6.56	2–4
<i>P. crombiei</i>	1086.94 ± 27.30	1105.26–1055.55	-	-	-
<i>P. cuvieri</i>	1851.20 ± 322.05	2181.81–1538.46	-	-	-
<i>P. deimaticus</i>	789.97 ± 96.35	866.66–681.81	32.07–52.15	2.31–8.6	-
<i>P. diplolister</i>	1402.13 ± 41.034	1437.5–1357.14	30.63–36.82	1.34–3.12	-
<i>P. erythros</i>	688.25 ± 181.46	862.06–500	29.76–40.47	1.85–4.5	4–14
<i>P. evangelistai</i>	2083.33 ± 144.33	2250–2000	17.57–22.1	1.38–6.79	2–4
<i>P. feioi</i>	1619.84 ± 192.70	1800–1416.66	-	-	-
<i>P. gaigeae</i>	539.22 ± 68.49	590.90–461.53	40.44–46.92	2.91–10.65	-
<i>P. gracilis</i>	2416.6 ± 520.41	3000–2000	-	-	-
<i>P. kroyeri</i>	2544.44 ± 394.87	3000–2300	11.57–17.18	1.54–7.32	2–6
<i>P. langonei</i>	435.50 ± 56.50	500–394.73	-	-	-
<i>P. lateristriga</i>	1896.11 ± 197.64	2086.95–1692.30	21.18–32.97	4.95–11.07	4–15
<i>P. lisei</i>	4333.33 ± 763.76	5000–3500	12.45–18.77	11.95–15.98	2–9
<i>P. marmoratus</i>	2861.11 ± 427.63	3333.33–2500	12.66–13.55	8.4–14.31	2–9
<i>P. maximus</i>	1022.75 ± 143.52	1111.11–857.14	12.86–21.54	10.36–22.83	-
<i>P. moreirae</i>	1315.65 ± 58.84	1363.63–1250	25.05–46.56	2.54–7.04	2–12
<i>P. mystacalis</i>	2388.88 ± 288.01	2714.28–2166.67	-	-	-
<i>P. nanus</i>	1335.35 ± 63.66	1400–1272.72	23.4–39.95	2.04–10.75	2–7
<i>P. olfersii</i>	1566.13 ± 153.96	1666.66–1388.88	-	-	-
<i>P. orophilus</i>	2108.33 ± 101.03	2200–2000	20.76–32.78	1.18–4.75	-
<i>P. poecilogaster</i>	453.03 ± 37.24	478.26–410.25	41.51–46.68	1.74–7.01	-
<i>P. serrana</i>	1750.33 ± 54.55	1785.71–1687.5	19.24–38.04	2.43–3.54	2–9
<i>P. signifer</i>	506.15 ± 29.71	538.46–480	23.0–42.36	1.75–6.38	2–8
<i>P. henselii</i>	2458.33 ± 288.67	2625–2125	-	-	-
<i>P. lutzii</i>	536.50 ± 143.20	700–433.33	49.75–69.9	1.16–2.09	-
<i>P. riograndensis</i>	2476.19 ± 171.69	2666.66–2333.33	-	-	-

<i>R. cardosoi</i>	427.36 ± 17.70	444.44–409.09	51.14–67.68	3.72–6.2	-
<i>S. arijui</i>	1707.91 ± 136.27	1818.18–1555.55	19.22–22.7	0.23–2.55	-
<i>S. sawaie</i>	2000 ± 166.66	2166.66–1833.33	21.87–32.51	0.69–1.54	-

Tabela 4. Medidas histológicas

Espécie	Número de Camadas	Diâmetro (max e min) médio e sd das GNs (mm)	Espessura (max e min) da epiderme (mm)	Espessura (max e min) do epitélio (mm)
<i>P. nattereri</i>	4	0.12–0.096 (0.02–0.015)	0.096–0.08 (0.005–0.007)	0.43–0.21 (0.015–0.025)
<i>P. albifrons</i>	4	0.09–0.086 (0.025–0.025)	0.09–0.04 (0.02–0.0025)	0.24–0.18 (0.03–0.009)
<i>P. albonotatus</i>	4	0.11–0.083 (0.01–0.015)	0.06–0.03 (0.005–0.0014)	0.206–0.170 (0.03–0.02)
<i>P. alium</i>	4	0.12–0.09 (0.017–0.01)	0.086–0.03 (0.015–0.0025)	0.29–0.23 (0.06–0.05)
<i>P. biligonigerus</i>	4	0.1–0.09 (0.03–0.03)	0.1–0.03 (0.015–0.006)	0.2–0.12 (0.03–0.027)
<i>C. itambe</i>	6	-	0.043 (0.005)	0.36 (0.09)
<i>P. centralis</i>	4	0.12–0.1 (0.016–0.018)	0.105–0.048 (0.007–0.001)	0.3–0.24 (0.07–0.065)
<i>P. cicada</i>	4	0.115–0.087 (0.023–0.009)	0.08–0.039 (0.01–0.0028)	0.196–0.155 (0.025–0.018)
<i>P. crombiei</i>	4	0.10–0.84 (0.017–0.015)	0.089–0.074 (0.003–0.003)	0.25–0.16 (0.02–0.03)
<i>P. cuvieri</i>	4	0.093–0.076 (0.0015–0.016)	0.1–0.08 (0.008–0.006)	0.31–0.24 (0.03–0.025)
<i>P. deimaticus</i>	4	0.11–0.1 (0.02–0.01)	0.09–0.03 (0.02–0.0062)	0.28–0.22 (0.03–0.02)
<i>P. dipolister</i>	4	0.114–0.095 (0.019–0.017)	0.1–0.07 (0.007–0.006)	0.4–0.25 (0.02–0.06)
<i>P. erythros</i>	4	0.11–0.1 (0.015–0.015)	0.08–0.036 (0.01–0.001)	0.25–0.19 (0.04–0.03)
<i>P. evangelistai</i>	4	0.11–0.086 (0.015–0.005)	0.09–0.038 (0.01–0.0062)	0.22–0.17 (0.049–0.045)
<i>P. feioi</i>	4	0.086–0.086 (0.011–0.005)	0.07–0.031 (0.01–0.0052)	0.19–0.15 (0.02–0.004)
<i>P. gracilis</i>	4	0.086–0.072 (0.012–0.008)	0.082–0.056 (0.007–0.02)	0.25–0.17 (0.03–0.04)
<i>P. kroyeri</i>	4	0.115–0.087 (0.019–0.012)	0.15–0.03 (0.014–0.006)	0.27–0.158 (0.02–0.007)
<i>P. lateristriga</i>	4	0.12–0.11 (0.017–0.01)	0.086–0.035 (0.02–0.0076)	0.19–0.14 (0.021–0.008)
<i>P. lisei</i>	4	0.12–0.103 (0.025–0.011)	0.103–0.038 (0.015–0.0076)	0.22–0.16 (0.040–0.032)
<i>P. marmoratus</i>	4	0.11–0.1 (0.015–0.015)	0.08–0.036 (0.01–0.001)	0.22–0.17 (0.02–0.011)
<i>P. maximus</i>	4	0.13–0.12 (0.023– 0.017)	0.1–0.036 (0.015–0.011)	0.22–0.15 (0.03–0.026)
<i>P. moreirae</i>	4	0.12–0.08 (0.02–0.01)	0.1–0.032 (0.02–0.005)	0.23–0.16 (0.03–0.035)
<i>P. mystacalis</i>	4	0.086–0.068 (0.014–0.014)	0.065–0.051 (0.004–0.005)	0.19–0.13 (0.01–0.02)
<i>P. nanus</i>	4	0.103–0.08	0.073–0.029	0.26–0.21

		(0.02–0.01)	(0.01–0.005)	(0.037–0.035)
<i>P. olfersii</i>	4	0.11–0.084 (0.04–0.03)	0.094–0.069 (0.001–0.01)	0.36–0.22 (0.02–0.02)
<i>P. poecilogaster</i>	5	0.1–0.07 (0.02–0.005)	0.076–0.038 (0.011–0.003)	0.23–0.19 (0.015–0.007)
<i>P. rupestris</i>	4	0.076–0.07 (0.011–0.01)	0.073–0.038 (0.015–0.003)	0.18–0.15 (0.03–0.02)
<i>P. serrana</i>	4	0.102–0.084 (0.021– 0.019)	0.095–0.07 (0.007–0.006)	0.3–0.21 (0.02– 0.04)
<i>P. signifer</i>	4	0.086–0.06 (0.005–0.001)	0.073–0.03 (0.0057–0.0075)	0.25–0.21 (0.02–0.022)
<i>P. lutzii</i>	5	0.14–0.11 (0.015–0.015)	0.086–0.057 (0.0057–0.005)	0.27–0.24 (0.02–0.02)
<i>L. petersii</i>	6	-	0.11 (0.02)	0.14 (0.01)
<i>R. cardosoi</i>	4	0.05–0.04 (0.002–0.001)	0.076–0.03 (0.015–0.003)	0.29–0.18 (0.02–0.01)
<i>S. arijui</i>	5	0.1–0.055 (0.02–0.005)	0.073–0.04 (0.01–0.0025)	0.15–0.12 (0.06–0.057)
<i>V. uranoscopa</i>	6	0.16–0.13 (0.04–0.02)	0.73–0.04 (0.01–0.01)	0.36–0.15 (0.06–0.06)