

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**DISSERTAÇÃO**

**Morfologia Larval Externa, Alterações Heterocrônicas e  
Tabela de Desenvolvimento para *Thoropa miliaris*  
(Anura: Cycloramphidae)**

**Gustavo Colaço Gonçalves**

**2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**MORFOLOGIA LARVAL EXTERNA, ALTERAÇÕES  
HETEROCRÔNICAS E TABELA DE DESENVOLVIMENTO PARA  
*THOROPA MILIARIS* (ANURA: CYCLORAMPHIDAE)**

**GUSTAVO COLAÇO GONÇALVES**

*Sob a Orientação do Professor*

**Dr. Hélio Ricardo da Silva**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Biologia Animal**, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração em Biodiversidade Animal.

Seropédica, RJ

Março de 2018

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G683m      Gonçalves, Gustavo Colaço, 1991-  
              Morfologia Larval Externa, Alterações Heterocrônicas  
              e Tabela de Desenvolvimento para *Thoropa miliaris*  
              (Anura: Cycloramphidae) / Gustavo Colaço Gonçalves. -  
              2018.  
              49 f.: il.

              Orientador: Hélio Ricardo da Silva.  
              Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
              do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Biologia  
              Animl, 2018.

              1. Desenvolvimento. 2. Girino. 3. Reprodução. 4.  
              História Natural. I. da Silva, Hélio Ricardo, 1961-,  
              orient. II Universidade Federal Rural do Rio de  
              Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Biologia Animl III.  
              Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**GUSTAVO COLAÇO GONÇALVES**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Biologia Animal**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de Concentração em Conservação de Grupos Silvestres.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM:    /    /    .

---

Hélio Ricardo da Silva. (Dr.) UFRRJ  
(Orientador)

---

Olivia Gabriela dos Santos Araújo. (Dr.<sup>a</sup>) UNESP-Rio Claro

---

Paulo Nogueira da Costa. (Dr.) UERJ

---

Adriana Ventura. (Dr.<sup>a</sup>) UFRRJ

*“Às vezes, a ciência é mais arte que ciência. Algumas pessoas não entendem isso”.*

- Rick Sanchez

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a minha família. Meus pais, Marcia e Orivaldo, pelo apoio e amor incondicional, cada um à sua maneira e por terem sido meus primeiros professores desde o início da minha trajetória, cada um à sua maneira. Meu irmão Marcos Vinicius, que além de ser família e mentor, agora se tornou um grande parceiro na pesquisa. Meus padrinhos, que sempre acreditaram e me apoiaram de todas as formas para que eu pudesse realizar meus sonhos profissionais e pessoais. A esses e aos demais familiares, que apesar da saudade e distancia, sempre me apoiaram orgulhosos e compreenderam o que esses anos representaram.

Agradeço aos irmãos da República Salve os Panda, pelos seis anos de parceria e cumplicidade do dia a dia, principalmente Gabriel Soares pela força na reta final da dissertação.

Agradecimento especial para os colegas do Laboratório de Herpetologia, Mayara Baêta, Raissa Rainha e Raoni Rebouças pela força, tanto no laboratório quanto nas coletas. Agradeço também aos colegas do Laboratório de Poliquetas e a professora Ana Brasil, pela participação ativa na minha formação, desde o primeiro período, até hoje. Agradecimento especial aos amigos poliquetólogos, Vinicius Miranda e Tiago Marinho, pelas discussões científicas e por outras nem tanto, que tornaram o dia-a-dia desses últimos dois anos mais agradáveis.

Agradeço a Rachel Montesinos pela última revisão do trabalho antes da submissão a banca. E agradeço ao Dr. Felipe Toledo (Unicamp), Dr. Paulo Garcia e Me. João Victor de Lacerda (UFMG) pela ajuda com consulta de materiais e recepção em suas coleções.

Agradeço as agências financiadoras, CAPES, pelos dois anos de bolsa, que permitiu dedicação total ao meu trabalho e a *Gans Collections and Charitable Fund* pelo subsídio a minha viagem ao XI Congresso Latinoamericano de Herpetología em quito no Equador, para que pudesse apresentar os primeiros passos do meu trabalho de dissertação.

Agradecimento mais que especial ao meu grande amigo e orientador, Dr. Hélio Ricardo, por ser meu mentor na minha formação como cientista e pessoa nesses últimos sete anos e por ter acreditado no meu potencial e ter se deslumbrado junto comigo a cada novidade que o mundo dos sapos e girinos nos apresentava.

E ao meu amor, Elisabeth Mureb, pelo companheirismo, dedicação e apoio. Por me aguentar falar de sapos e girinos e por me fazer acreditar e sentir que eu sou tudo o que eu posso ser, como homem e cientista.

E finalmente a minha amada Rural, por me tornar aquilo que eu sou hoje!

## RESUMO

COLAÇO, Gustavo. **Morfologia Larval Externa, Alterações Heterocrônicas e Tabela de Desenvolvimento de *Thoropa miliaris* (Anura: Cycloramphidae)**. 2018. 40p Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

*Thoropa miliaris* é um ciclorranfídeo endêmico da mata atlântica, que desova e tem o desenvolvimento das larvas em filmes de água que escorrem sobre afloramentos rochosos. Os girinos de *T. miliaris* apresentam morfologia distinta daquela dos girinos livre nadantes, como achatamento dorsoventral do corpo, ausência da nadadeira dorsal e modificação da ventral, e a região abdominal formando um disco. Ao longo do desenvolvimento, as larvas apresentam uma série de alterações na sequência de eventos de formação e apoptose de diversas estruturas. Para os estudos do desenvolvimento foram utilizados diferentes semaforontes de *T. miliaris*, que representam as fases do desenvolvimento desde a formação do tubo neural até o fim da metamorfose. O estudo das sequências ontogenéticas possibilitou a construção de uma tabela de estágios de desenvolvimento para *T. miliaris* semelhante a desenvolvida por Gosner (1960) para girinos livre nadantes. Os semaforontes foram agrupados em quatro fases funcionais do desenvolvimento com base nas estruturas observadas e comportamentos associados. A trajetória de desenvolvimento de *T. miliaris* foi comparada com a de espécies de modo de reprodução e desenvolvimento generalista e com outras especialistas. *Thoropa miliaris* apresenta desenvolvimento intracapsular longo e uma série de estruturas comuns em outros girinos está ausente e outras sofreram alterações no ritmo de desenvolvimento. A eclosão ocorre relativamente mais tarde e os girinos, ao eclodirem, apresentam uma série de estruturas que permitem sobreviver no ambiente de rocha nua, com pouca água e acentuada inclinação. Durante o clímax da metamorfose *T. miliaris* também exibe uma série de heterocronias principalmente relacionadas a emergência dos membros anteriores e a degeneração do disco oral. Essas alterações no desenvolvimento parecem estar associadas as adaptações específicas a vida nos afloramentos rochosos onde os girinos permanecem até completar seu desenvolvimento.

**Palavras-chave:** Girino, Heterocronia, Ontogenia.

## ABSTRACT

COLAÇO, Gustavo. **External Larval Morphology, Heterocronic Changes and Developmental Table of *Thoropa miliaris* (Anura: Cycloramphidae)**. 2018. 40p Dissertation (Master's Degree in Animal Biology). Institute of Biological Sciences and Health Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

*Thoropa miliaris* is a cycloramphid endemic to the Atlantic forest, which breeds and development its larvae in water films on rocky outcrops. The tadpoles of *T. miliaris* morphologically distinctive from free swimming larvae, such as dorsoventral flattening of the body, absence of the dorsal fin and modification of the ventral and of the abdominal region that forms a disc. In addition, throughout development, the larvae present a series of alterations in the rhythm of formation and apoptosis of several structures. For the developmental studies, different semaphoronts were used, from the formation of the neural tube to the end of the metamorphosis. The study of ontogenetic sequences enabled the construction of a table of developmental stages based on Gosner (1960). The semaphoronts were grouped into four functional phases of development based on the structures presented and associated behavior, and the developmental trajectory of *T. miliaris* was compared to those of generalized species and reproductive mode and those considered more specialists. *Thoropa miliaris* presents long intracapsular development and a series of absences and changes in the development of embryonic structures. Hatching occurs late and tadpoles present a series of structures that seems to represent adaptations to explore the unique habitat created by films of water on rocky outcrops. During the metamorphic climax, *T. miliaris* also exhibits a series of heterochronies mainly related to the emergency of the anterior limbs and the degeneration of the oral disc. These developmental changes seem to be associated with life-specific adaptations in rocky outcrops where tadpoles remain until their development is complete.

**Keywords:** Tadpole, Heterocrony, Ontogeny.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Girino de *Thoropa miliaris* estágio 36 de Gosner. (A) Vista dorsal, (B) Vista ventral, (C) Lateral esquerda, (D) Detalhe da saia cloacal, (E) Detalhe do disco oral, (F) Detalhe do espiráculo interno..... 10
- Figura 2.** Desovas de *Thoropa miliaris* em Mangaratiba – RJ; A e B, ovos com semaforontes em estágios Embrionários; C, ovos com semaforontes em estágios Pré-eclosão..... 11
- Figura 3.** Tabela dos Estágios Embrionários (Fase I) para *Thoropa miliaris*. (Escala = 1mm)..... 13
- Figura 4.** Tabela dos Estágios Pré-eclosão (Fase II) para *Thoropa miliaris*. bm: broto do membro posterior; esp: espiráculo..... 15
- Figura 5.** Tabela dos Estágios Larvais (Fase III) para *Thoropa miliaris*. bm: broto do membro posterior..... 17
- Figura 6.** Tabela dos Estágios Metamórficos (Fase IV) para *Thoropa miliaris*. ac: abertura cloacal; jb: janela braquial; sc: saia cloacal. (Escala = 1mm)..... 20

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Medidas dos girinos de *Thoropa miliaris*: número de indivíduos (n); comprimento total (CT); comprimento do corpo (CCA); largura do corpo (LCO); altura do corpo (ACO); diâmetro do olho (DO); distância olho-narina (DON); distância olho-focinho (DOF); distância interorbital (DIO); distância inter-nasal (DIN); largura do disco oral (LDO); comprimento da cauda (CCA); altura da cauda (ACA)..... 9
- Tabela 2.** Tabela Adaptada de Gosner (1960) para os Estágios Embrionários (Fase I) de *Thoropa miliaris* ..... 13
- Tabela 3.** Tabela Adaptada de Gosner (1960) para os Estágios Pré-eclosão (Fase II) de *Thoropa miliaris* ..... 16
- Tabela 4.** Tabela Adaptada de Gosner (1960) para os Estágios Larvais (Fase III) de *Thoropa miliaris* ..... 18
- Tabela 5.** Tabela Adaptada de Gosner (1960) para os Estágios Metamórficos (Fase IV) de *Thoropa miliaris* ..... 19

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 Um Breve Resumo Histórico Sobre Ontogenias, Tabelas e Estudo do Desenvolvimento: O que é possível compreender sobre evolução através do estudo do desenvolvimento?.....	3
1.2 Objetivos .....	5
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	6
2.1 Amostra de girinos analisados.....	6
2.2 Análise e terminologia da morfologia externa .....	6
2.3 Determinação dos estágios de desenvolvimento .....	6
<b>3 RESULTADOS</b> .....	8
3.1 O Girino de <i>Thoropa miliaris</i> .....	8
3.2 Morfologia Externa e Estágios de Desenvolvimento .....	12
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	21
4.1 O Desenvolvimento de algumas estruturas larvais pré-eclosão em <i>Thoropa miliaris</i> ....	22
4.2 Desenvolvimento durante o clímax da metamorfose em <i>Thoropa miliaris</i> .....	24
4.3 A presença do menisco nas larvas de <i>Thoropa</i> , seu desenvolvimento e implicações filogenéticas para Cycloramphidae .....	25
4.4 Estruturas comuns em girinos nadantes e ausentes em <i>Thoropa miliaris</i> .....	25
4.5 Considerações ecomorfológicas .....	26
4.6 Considerações sobre o desenvolvimento na família Cycloramphidae .....	28
4.7 Tabelas de Desenvolvimento e Sistema de Determinação de Estágios de Larvas de Anuros .....	29
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	31
<b>APÊNDICES</b> .....	38

# 1 INTRODUÇÃO

Entre os vertebrados terrestres vivos, os anfíbios anuros são os que possuem morfologia mais conservadora, entretanto aspectos da ecologia e história natural das quase sete mil espécies figuram entre os mais distintos (Duellman e Trueb, 1986). O grupo é caracterizado principalmente por possuir um ciclo de vida bifásico, com larvas e adultos que possuem morfologia, ecologia e fisiologia distintas; estas ligadas a um complexo evento de metamorfose que resulta em morfologia corporal distinta entre as fases larval e adulta (Duellman e Trueb, 1986; Handrigan e Wassersug, 2007). Embora os clados com o maior número de espécies sejam aqueles com desenvolvimento direto (Fabrezi, 2016), das 6866 espécies conhecidas de anuros (Frost, 2018), aproximadamente 75 por cento possuem fase larval (McDiarmid e Altig, 1999). Essas grandes diferenças ecomorfológicas observadas entre as fases podem ser explicadas, associada a hipótese de que, em cada etapa do desenvolvimento e da história de vida, diversas características morfológicas foram selecionadas independentemente (Harris, 1999). Adicionalmente, cada uma dessas características, em cada fase do desenvolvimento, parece ser controlada por um conjunto diferente de genes específicos (Valero *et al.*, 2017).

A vida aquática das larvas, independente e distinta da dos adultos, tanto em hábito como em forma, suscitou explicações de seleção independente entre as fases de vida e também interpretações distintas quanto a natureza da variação morfológica em larvas e adultos (Wassersug, 1975). Isto gerou, na maior parte do século XX, uma reação contrária ao uso de caracteres larvais em estudos filogenéticos (ver Haas, 2003 e Miranda *et al.*, 2015). Hennig (1966) talvez tenha sido o primeiro autor a mostrar o grave erro da posição contrária ao uso de caracteres larvais em sistemática, o que é discutido em sua definição de semaforontes como a unidade das comparações em sistemática. Entre os herpetólogos, o uso de caracteres larvais deixou de ser “tabu” com os trabalhos próximos à virada do século XX, que tentaram resgatar o valor desses caracteres para a sistemática (Haas, 1996, 1997, 2003; Maglia *et al.*, 2001; Pugener *et al.*, 2003). No entanto, o caráter efêmero de muitas das características larvais, que são muito alteradas ou desaparecem na metamorfose (Etkin, 1932; Fox, 1983; McDiarmid e Altig, 1999), demanda estudos da morfologia das larvas com algum grau de entendimento do desenvolvimento dessas estruturas. Um forte impedimento do progresso nesta área do conhecimento é nossa ignorância das formas larvais. Das mais de 5000 espécies de anfíbios anuros com larva, apenas uma pequena parte foi estudada ao longo de sua ontogenia. Essa escassez de estudos pode ser explicada, tanto pela biologia diferenciada de algumas espécies, quanto pela dificuldade de se obter as larvas.

As formas larvais conhecidas, foram agrupadas por Orton (1953) em quatro morfotipos básicos e de vida livre, identificados principalmente com base na morfologia oral e posição do espiráculo (ou estrutura opercular). Suas análises também serviram para definir seis grupos adaptativos de girinos (arbóreo, forrageador de superfície, desenvolvimento direto, córrego montanhoso, nectônico e carnívoro) derivados de uma forma ancestral generalizada de poça (típico lentic-bentônico). Esforços, mais recentes, procuraram agrupar os girinos em guildas ecológicas (ver Altig e Johnston, 1989 e também Duellman e Trueb, 1986). Esses autores traçaram relação entre morfologia, habitats e modos de desenvolvimento dos anuros, que após uma revisão posterior (ver McDiarmid e Altig, 1999) foram reconhecidas e agrupadas em 6 guildas de desenvolvimento para espécies endotróficas (baseados no grau de perda da forma larval – desenvolvimento direto) e 15 guildas ecomorfológicas para larvas exotróficas (baseadas principalmente no corpo, cauda, posição dos olhos e aparato oral), que representam a grande diversidade de formas apresentadas no grupo (McDiarmid e Altig, 1999), sendo as formas das guildas de larvas exotróficas, de maneira geral, muito semelhantes à forma típica generalizada, ocupando uma série de ambientes lênticos e lóticos típicos.

Considerando que um girino de poça—com boca anteroventral, espiráculo do lado esquerdo do corpo, boca com papilas simples circundantes, bico córneo, duas fileiras anteriores de denticulos e três posteriores, sendo as mais próximas do bico córneo dividida e nadadeiras dorsal e ventral na cauda—como a forma larval que mais se assemelha a morfologia ancestral para larvas de anuros, podemos afirmar que muitos grupos de anuros apresentam girinos ecomorfológicamente mais distintos desta forma (Altig e Johnston, 1989; Lutz, 1947, 1948; McDiarmid e Altig, 1999). Um exemplo significativo de táxons com larvas distintas na região Neotropical, mais especificamente na Mata Atlântica Brasileira, são as das espécies da família Cycloramphidae Bonaparte, 1850 que agrupa os gêneros *Cycloramphus* Tschudi, 1838 (28 spp.), *Thoropa* Cope, 1865 (6 spp.) e *Zachaenus* Cope, 1866 (2 spp.). Nesta família são reunidas espécies com biologia reprodutiva peculiar que ocupam dois grupos ecomorfológicos (Verdade, 2005). O primeiro desses grupos engloba todas as espécies do gênero *Thoropa* e parte das espécies de *Cycloramphus* (grupos *fuliginosus*, *granulosus* e *ohausi*; 20 spp.), que depositam seus ovos sobre finas camadas de água que escorrem em afloramentos de rochas graníticas-gnáissicas, em riachos encachoeirados ou independentes de grandes corpos d'água e possuem girinos exotróficos com morfologia peculiar (Bokermann, 1965; Giaretta e Facure, 2004; Lutz, 1948), que eclodem em estágios mais avançados de desenvolvimento (Verdade, 2005). O segundo grupo engloba o restante das espécies conhecidas do gênero *Cycloramphus* (grupos *bolitoglossus* e *eleutherodactylus*; 8 spp.) e as duas espécies de *Zachaenus* (*Z. parvulus* e *Z. carvalhoi*), que se reproduzem em ambiente terrestre, possuem ovos grandes depositados no solo da floresta, tocas ou cavidades úmidas e as larvas são endotróficas, com morfologia e desenvolvimento diferenciados, que também atrasam sua eclosão e permanecem no ninho até completarem seu desenvolvimento (Heyer e Crombie, 1979; Lutz, 1943, 1944; Verdade, 2005; Zocca *et al.*, 2014). Além disso, os membros de Cycloramphidae compartilham similaridades morfológicas (*e.g.* menisco nos olhos dos girinos) e ecológicas (*e.g.* reprodução, cuidado parental) e distribuições geográficas restritas a mata atlântica da Bahia até o Rio Grande do Sul. Historicamente, esses gêneros foram tratados como pertencendo a mesma família (Fouquet *et al.*, 2013; Grant *et al.*, 2006; Pyron e Wiens, 2011) ou subfamília (Lutz, 1954; Lynch, 1971). Os estudos filogenéticos mais recentes reforçam a hipótese de se tratar de um grupo monofilético, embora não existam evidências morfológicas inequívocas deste relacionamento (Fouquet *et al.*, 2013; Pyron e Wiens, 2011).

Entre os ciclورانفideos, o gênero *Thoropa* é reconhecido por agrupar espécies com desova e desenvolvimento das larvas exclusivamente em filmes d'água que escorrem sobre afloramentos de rochas graníticas-gnáissicas (Lutz, 1954; Bokermann, 1965) e por apresentar excrecências nupciais nos machos (Bokermann, 1965). O gênero compreende anuros de pequeno (*e.g.* *T. petropolitana*) e médio porte (*e.g.* *T. taophora*) variando seu tamanho médio entre 28 e 102mm (CRC). As espécies do gênero ocorrem desde o nível do mar até 1500m de altitude (Feio *et al.*, 2006) na região oriental do Brasil, com representantes no sul da Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, sul de Santa Catarina e norte do Rio Grande do Sul (Cocroft e Heyer, 1988; Nunes-de-Almeida *et al.*, 2016). Seis espécies são reconhecidas para o gênero, a saber: *Thoropa lutzi* Cochran, 1938; *Thoropa megatypanum* Caramaschi e Sazima, 1984; *Thoropa miliaris* (Spix, 1824); *Thoropa petropolitana* (Wandolleck, 1907); *Thoropa saxatilis* Cocroft e Heyer, 1988 e *Thoropa taophora* (Miranda-Ribeiro, 1923) (Frost, 2018).

*Thoropa miliaris* é a espécie do gênero que apresenta a mais ampla distribuição geográfica, ocorrendo no Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais e no centro-sul da Bahia (Bokermann, 1965; Feio *et al.*, 2006; Nunes-de-Almeida *et al.*, 2016) e as formas encontradas ao longo do gradiente latitudinal apresentam diferenças morfológicas que podem favorecer a hipótese de que *T. miliaris* seja na realidade um complexo de espécies (ver Cocroft e Heyer, 1988; Feio *et al.*, 2006; Maxon e Heyer, 1982). Em *T. miliaris* uma das características que o

diferenciam dos outros dois gêneros da família é o desenvolvimento de espinhos nupciais queratinizados na superfície de 3 dos 4 dedos e nos tubérculos metacarpais internos (Bokermann, 1965), que Rebouças *et al.*, (2017) mostraram que aparecem logo após a metamorfose.

### **1.1 Um Breve Resumo Histórico Sobre Ontogenias, Tabelas e Estudo do Desenvolvimento: O que é possível compreender sobre evolução através do estudo do desenvolvimento?**

O estudo do desenvolvimento dos metazoários tem sido abordado como uma das perspectivas para compreensão da evolução biológica. Mais comumente como fonte de informação filogenética, porém existem muitas controvérsias (Smith, 2001, 2002). No século XIX as informações sobre o desenvolvimento de vertebrados e invertebrados foram apresentadas como "evidências" para a classificação de grandes grupos, como Protostomados – *e.g.* Clivagem espiral; Blastóporo origina a boca – e Deuterostomados – *e.g.* Clivagem radial, Blastóporo origina o ânus – (Martín-Durán *et al.*, 2016). Outra proposta desses estudos do século XIX foi a que os vários passos do desenvolvimento ofereciam uma janela para a compreensão da filogenia, no que ficou conhecido como o Teoria recapitulacionista, ou Lei Biogenética de Haeckel, conhecida por descrever o paralelismo entre o desenvolvimento embrionário e a filogenia (Richardson e Keuck, 2002). Nomes como o de von Baer (1792-1876) e Haeckel (1834-1919) são comumente citados como os pioneiros deste campo de estudos. As primeiras tabelas comparadas do desenvolvimento de vertebrados são deste período e documentam, entre outras coisas, um conjunto de semelhanças nas estruturas embrionárias (Hopwood, 2007). Já no século XX, vários autores apresentaram sérias críticas a esse programa de pesquisa. Entretanto o estudo do desenvolvimento e a confecção de tabelas com estágios de desenvolvimento, tornaram-se disciplinas independentes na biologia.

O estudo da embriologia como conhecemos hoje, teve seu estabelecimento nas décadas próximas ao ano de 1800, em meio à tentativa de compreender os eventos e mecanismos acerca do desenvolvimento animal. O estudo da embriologia, hoje, é inconcebível sem a definição de estágios normais e divisões padronizadas do desenvolvimento (Hopwood, 2007). Impulsionada pelas discussões sobre desenvolvimento (e ideias Darwinistas em meados do século XIX), a confecção de “tabelas de desenvolvimento normal” se tornou uma prática comum entre os embriologistas daquela época, tanto para a espécie humana, quanto para diversos outros grupos animais (*e.g.* anfíbios, peixes e aves). A partir do início do século XX, devido principalmente ao crescimento da embriologia experimental, surgiu a necessidade de uma padronização e do estabelecimento de uma “linguagem comum” entre os laboratórios e estudantes de embriologia (Pollister e Moore, 1937). No decorrer nos últimos 100 anos, diversos estudos reconheceram que uma sequência ordenada de alterações morfológicas poderia ser usada para medir o progresso do desenvolvimento de forma discreta, através de uma numeração sequencial, conhecida como estagiamento (Just *et al.*, 1981). Tendo como as mais significantes, no que diz respeito aos anuros, a tabela de desenvolvimento de *Xenopus laevis* (Nieuwkoop e Faber, 1956), fruto de uma grande cooperação internacional da época, com enorme impacto para as ciências fisiológicas e embriológicas; e a tabela de Gosner (1960), que apresentou um sistema simplificado adequado para o estagiamento de séries de desenvolvimento “generalizadas” e que hoje é amplamente difundida em trabalhos das mais variadas naturezas envolvendo o estudo de girinos. A grande variabilidade de características observáveis nas larvas de anuros (*e.g.* partes bucais, brânquias, membros, cauda) e o acesso aos espécimes, fez com que nenhum outro grupo vertebrado tivesse recebido mais atenção, quanto à variação da morfologia externa e sistemas de estabelecimento de estágios de desenvolvimento (Noble, 1931; Just *et al.*, 1981).

Alguns pesquisadores, ao estudar o desenvolvimento, alteraram sua sequência natural, via manipulações moleculares. Com isso, a compreensão das sequências de desenvolvimento ganhou um novo campo e um programa de pesquisas do desenvolvimento à nível celular despertou o interesse de diversos pesquisadores (Arthur, 2002). Com o advento da possibilidade de sequenciar DNA, uma nova disciplina foi estabelecida (Evo-Devo – Evolução do Desenvolvimento), que se debruça sobre as questões de regulação do desenvolvimento mediado por genes, ao longo da evolução biológica (Raff, 2000).

Hoje a pesquisa de Evo-Devo é caracterizada pela análise da forma como os sistemas de desenvolvimento evoluem (evoluíram) e as consequências desses sistemas historicamente estabelecidos para a evolução da organização animal, bem como as interações da evolução do desenvolvimento com as condições ambientais (Müller, 2007). O estado atual desta subdisciplina da biologia, quando aplicado a sistemática ainda é incipiente, e como tal, apenas recentemente começou a ser visto como um programa independente de pesquisa e conceitualmente diferente da abordagem de outros programas, como, por exemplo, a Genética do Desenvolvimento. O que, por sua vez, propiciou que fossem ressuscitadas ideias e conceitos da anatomia e embriologia clássicas (Fabrezi, 2012), aumentando as perspectivas e relações entre os estudos de desenvolvimento e evolução dos organismos. Estudos dessa natureza com anuros, se tornaram crescentes nas últimas décadas, e tem como principal foco de abordagem os eventos de alteração no tempo e na sequência de aparecimento de estruturas (Heterocronia) durante o desenvolvimento embrionário, larval ou pós-metamórfico (Acosta e Vera Candiotti, 2017; Acosta *et al.*, 2017; Vera Candiotti *et al.*, 2011; Chipman, 2002, Emerson, 1986, Fabrezi, 2011, 2016; Fabrezi e Cruz, 2014; Fabrezi e Goldberg, 2009; Fabrezi e Quinzio, 2008; Fabrezi *et al.*, 2009, 2010, 2012, 2014, 2016, 2017; Goldberg e Fabrezi, 2008; Larson, 2005; Quinzio e Fabrezi, 2012).

Desde a criação da nova disciplina, os estudiosos do desenvolvimento também se viram obrigados a cunhar e definir novos termos para tratar de temas exclusivos da disciplina. Em biologia comparada, um desses termos é heterocronia. O termo foi cunhado por Haeckel, no início do século XIX, na tentativa de descrever padrões de desenvolvimento nos quais não eram possíveis traçar paralelos entre as sequências ontogenéticas e a filogenia (Richardson e Keuck, 2002; Smith, 2001, 2002). A heterocronia pode ser definida como as mudanças no tempo de eventos do desenvolvimento causadas por processos que os levam a ocorrer cedo, tarde ou em uma diferente taxa em um táxon quando comparado a outro, considerado ancestral (Alberch *et al.*, 1979; Alberch e Alberch, 1981; Gould, 1977; Smith, 2001, 2002).

O estudo da heterocronia teve sua primeira revolução conceitual apenas em meados do século XX, com o trabalho de deBeer (1940), que tentou distanciar o conceito de heterocronia da ideia de recapitulação de Haeckel, focando na compreensão de como os diferentes mecanismos e alterações no tempo de desenvolvimento poderiam produzir as diferenças observadas entre as espécies. Apenas com os trabalhos de Gould (*Ontogeny and Phylogeny*, 1977) e Alberch *et al.* (1979), o conceito de heterocronia começou a fazer parte do vocabulário cotidiano da biologia evolutiva moderna. Eles centraram suas discussões nos processos de desenvolvimento que produzem alterações no tamanho e na forma dos organismos e nos paralelos entre ontogenia e filogenia, retornando a ideias de recapitulação de Haeckel (Smith, 2001, 2002). Mais recentemente, diversas aplicações e revisões conceituais foram realizadas, sendo algumas das mais importantes a série de trabalhos de Smith (2001, 2002, 2003). Nesses trabalhos a autora defende uma abordagem alternativa à “Heterocronia de crescimento” de Gould (1977) e Alberch *et al.* (1979), o que ela denominou como “Heterocronia de sequência”. Essa abordagem permitiu analisar de maneira mais prática as mudanças ao longo de uma sequência ontogenética em um contexto filogenético.

Para os estudos de desenvolvimento e sua contextualização teórica com anfíbios anuros, as principais revisões conceituais foram realizadas recentemente por Fabrezi (2012) e Fabrezi

*et al.* (2014, 2017). Esses trabalhos visaram contextualizar alguns dos conceitos mais utilizados nos estudos de desenvolvimento e enfatizar a relevância do estudo dos componentes fundamentais para o estudo de ontogenias (forma-tamanho-tempo) e suas métricas de idade (desenvolvimento e crescimento), assim como a necessidade da organização das informações de sequência e confecção de tabelas de desenvolvimento.

Desde o início do século XXI houve um incremento no número de estudos direcionados por um novo entendimento do valor da pesquisa em morfologia e sua inclusão nos estudos de desenvolvimento, biomecânica, comportamento, ecologia, fisiologia, sistemática e evolução de anfíbios (Wake, 2012). Nesse novo contexto, onde a biologia do desenvolvimento pode proporcionar uma visão mais compreensiva desde o ponto de vista histórico ao funcional da forma animal, a morfologia ganha um novo significado nos estudos evolutivos (Fabrezi, 2012). Os anuros, por apresentarem uma grande gama de modos de desenvolvimento, com diversas espécies com uma fase larval de vida livre e de criação e manipulação relativamente fácil, se tornaram populares em laboratórios pelo mundo todo como “animal modelo”, entre várias áreas, sendo utilizados extensivamente em estudos fisiológicos que visam o aumento da compreensão acerca da biologia evolutiva (Burggren e Warburton, 2007).

### **1.3 Objetivos**

Os objetivos desse trabalho são: (1) Apresentar uma descrição detalhada dos principais traços da morfologia e história natural dos girinos de *T. miliaris*; (2) Descrever a trajetória ontogenética dos atributos morfológicos externos dos embriões e das larvas de *T. miliaris*; (3) Elaborar uma tabela pictórica de desenvolvimento que ilustre os principais estágios e características morfológicas mais marcantes ao longo do desenvolvimento embrionário, larval e metamorfose da espécie; (4) Comparar o desenvolvimento de *T. miliaris* com espécies generalistas e outras especialistas, como as de desenvolvimento direto; e (5) apresentar uma discussão sobre as implicações destas peculiaridades ontogenéticas nos contextos ecológico e evolutivo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostra de girinos analisados

Foram analisados 316 girinos de *Thoropa miliaris* provenientes de diferentes populações dos estados do Rio de Janeiro e de Minas Gerais. Como complemento aos resultados e para fins de comparação foram utilizados também 123 girinos de *T. megatympanum* provenientes e 12 localidades e 58 girinos de *T. taophora* de duas localidades. A lista de espécimes examinados, bem como suas respectivas coleções, se encontra no Apêndice A.

### 2.2 Análise e terminologia da morfologia externa

As definições e terminologia utilizada para o estudo dos caracteres larvais seguem diferentes autores, pois raramente um único autor tratou de múltiplos aspectos morfológicos em um só trabalho. A terminologia utilizada para diferentes traços mais gerais da morfologia externa (e.g. opérculo e espiráculo, orientação dos olhos) e a tomada de medidas seguiu Altig (2007) e McDiarmid e Altig (1999). A descrição e terminologia das partes orais e suas estruturas queratinizadas seguiu Dubois (1995). Para discussão sobre aspectos do uso de estruturas larvais na compreensão da sistemática dos anuros foram utilizados Haas (2003) e Orton (1953). A organização dos dados em tabelas seguiu Gosner (1960) e/ou Nieuwkoop e Faber (1956).

As observações da morfologia externa foram realizadas utilizando uma lupa estereomicroscópica, OLYMPUS SZ40 e as medidas foram tomadas com a utilização de um paquímetro digital. Após a determinação das estruturas em cada estágio, uma amostra menor de girinos, representativa desses estágios previamente estabelecidos, foi fotografada em uma lupa com programa de montagem de imagens com foco múltiplo, Leica M205 C e o software Leica Application Suite.

### 2.3 Determinação dos estágios de desenvolvimento

A fim de facilitar as comparações, além de quantificar e qualificar as distintas morfologias durante o desenvolvimento de *T. miliaris*, alguns critérios foram utilizados para a organização das formas observadas em uma sequência lógica de estágios. A determinação dos estágios de desenvolvimento seguiu os seguintes passos:

1. Os diferentes estágios de desenvolvimento, ou semaforontes (*sensu* Hennig, 1966), foram definidos com base na morfologia externa conforme apresentado por Gosner (1960). Isso permitiu, que um sistema comparável pudesse ser estabelecido, mesmo que novas morfologias e novos estágios fossem definidos para *T. miliaris*. Após a determinação mais apropriada seguindo o sistema de Gosner (1960), com base na observação de um conjunto adicional de características, foram identificados os semaforontes que não puderam ser encaixados nos estágios definidos por Gosner (1960).
2. A identificação e descrição de morfologias peculiares e de suas mudanças ao longo do desenvolvimento nos girinos de *T. miliaris* (e.g. menisco, nadadeiras dorsal e ventral, projeções abdominais), permitiu a determinação mais precisa dos semaforontes e o estabelecimento da sequência de eventos de formação, degeneração e modificação dos caracteres ao longo do desenvolvimento.

3. As formas que apresentam características diagnósticas de diferentes estágios definidos por Gosner (1960) receberam a notação “A” ou “B”, após a notação do estágio segundo esse sistema, que continha as características básicas mais próximas de determina-lo, para demonstrar que se tratam de formas suficientemente diferenciadas para serem alocadas apenas utilizando os critérios de Gosner (1960).
4. Os estágios obtidos foram agrupados em quatro fases funcionais do desenvolvimento, semelhante ao que foi feito por Araújo *et al.* (2016) para os dois períodos de desenvolvimento de *Pipa arrabali*, porém o critério utilizado foi baseado na divisão das categorias do desenvolvimento de McDiarmid e Altig (1999) para a tabela de Gosner (1960). As fases funcionais são: I) Estágios Embrionários; II) Estágios Pré-eclosão; III) Estágios Larvais e IV) Estágios Metamórficos. Em relação ao primeiro grupo de estágios (Estágios embrionários) a amostra de semaforontes obtida incluí apenas quatro semaforontes que puderam ser alocados em tal grupo de estágios.

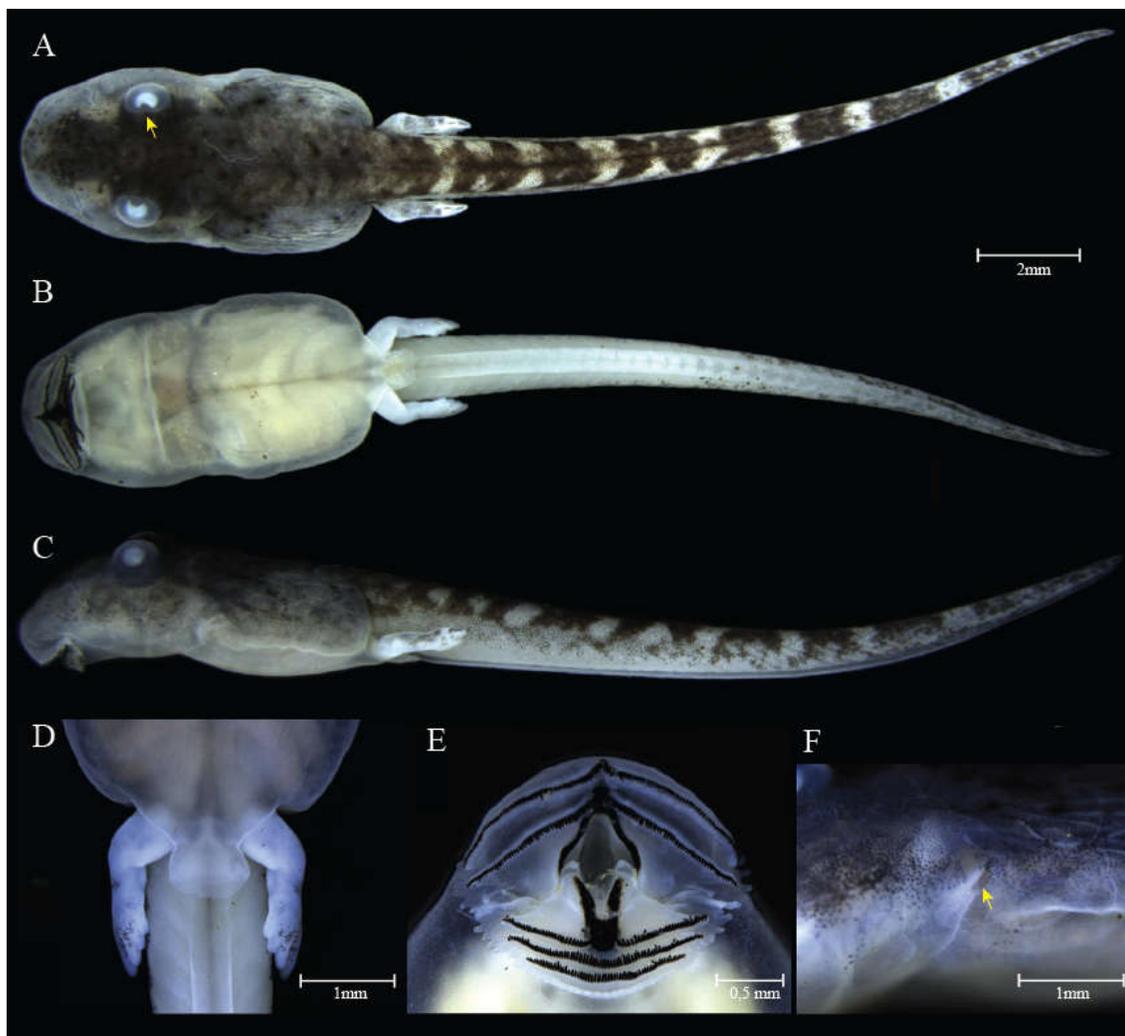
## 3 RESULTADOS

### 3.1 O Girino de *Thoropa miliaris*

A presente descrição foi realizada com base em um girino no estágio 36 de Gosner (Figura 1). Para as medidas foram utilizados 25 girinos em diferentes estágios de desenvolvimento, que estão organizadas no Tabela 1. Como complemento as descrições morfológicas foram utilizados os demais girinos da amostra. Os girinos possuem cauda e corpo alongados. Em vista lateral o corpo é achatado dorso-ventralmente. Em vista dorsal, o corpo possui forma ovoide, mais comprido que largo. A porção posterior do corpo é mais larga que a anterior, devido a uma protuberância arredondada em cada lado do corpo, separadas por uma robusta musculatura axial. Há um limite bem marcado entre a região da cabeça e o restante do corpo, que se curva em forma de “C” para a porção anterior do corpo. Os olhos são grandes e dorso-lateralmente orientados com a presença de um menisco na porção médio-dorsal da íris. O focinho é arredondado e as narinas são pequenas e orientadas dorso-lateralmente. O espiráculo é sinistro e interno, localizado na porção média do corpo, com sua abertura circular, orientada a 45° dorso-caudalmente. O abdômen é transparente, expondo o longo intestino, que possui o alto grau de espiralização no lado esquerdo do corpo. Projeções laterais de pele do abdômen (disco abdominal) são observadas, principalmente na porção mais caudal do corpo. Também é observada uma projeção medial da porção caudal do abdômen (saia cloacal) que possui uma constrição mediana e cobre parte dos membros posteriores e o tubo anal. A cauda corresponde a aproximadamente 70% do comprimento total e possui musculatura robusta, com os miômeros bem evidentes. A nadadeira dorsal é ausente. A nadadeira ventral é modificada, com um aspecto achatado, se projetando lateralmente. O disco oral é grande ( $\pm 80\%$  a largura da cabeça) e orientado ventralmente. A papilação em torno do disco oral é em fileira única e se estende do limite inferior da primeira fileira de denticulos córneos até a porção mais ventral do lábio inferior. A fórmula oral é 2(2)/3(1). Os denticulos das fileiras não possuem diferenças consideráveis de tamanho. As fileiras A-2 e P-1 possuem uma separação medial, onde se inserem as partes superior e inferior do bico córneo, respectivamente. O bico córneo é alongado e comprimido lateralmente, sendo a porção inferior menor e mais comprimida lateralmente, com as extremidades mais distais da porção superior e inferior serrilhadas. Em vida, possuem coloração críptica, na região da cabeça (entre os olhos e narinas) é marrom escura e na porção mais posterior do corpo variando entre o marrom escuro e o claro. A cauda apresenta faixas transversais que alternam a coloração marrom escura e marrom clara, por toda sua extensão. A porção ventral da cauda é bege claro. Pontoações esbranquiçadas translúcidas (iridóforos) estão presentes por todo o corpo e cauda, sendo mais pronunciados nas porções laterais e inferiores de ambos. Em preservativo, fixados em formalina 5-10%, o marrom escuro se torna mais uniforme em seus tons e o marrom claro se torna mais esbranquiçado.

**Tabela 1.** Medidas dos girinos de *Thoropa miliaris* em milímetros: número de indivíduos (n); comprimento total (CT); comprimento do corpo (CCA); largura do corpo (LCO); altura do corpo (ACO); diâmetro do olho (DO); distância olho-narina (DON); distância olho-focinho (DOF); distância interorbital (DIO); distância inter-nasal (DIN); largura do disco oral (LDO); comprimento da cauda (CCA); altura da cauda (ACA).

<b>n</b>	<b>Estágios</b>						
	<b>28</b>	<b>33</b>	<b>34</b>	<b>35</b>	<b>36</b>	<b>40</b>	<b>41</b>
	11	1	1	1	4	4	3
<b>CT</b>	17,5 ± 1,48 (14,65 - 19,45)	19,66 -	24,38 -	28,32 -	27,43 ± 1,53 (25,92 - 29,57)	29,34 ± 1,54 (27,47 - 30,69)	32,02 ± 1,13 (31,13 - 33,29)
<b>CCO</b>	5,32 ± 0,42 (4,55 - 5,77)	6,76 -	7,36 -	8,63 -	8,16 ± 0,4 (7,94 - 8,76)	9,31 ± 0,44 (8,72 - 9,8)	9,81 ± 0,17 (9,6 - 9,94)
<b>LCO</b>	3,29 ± 0,2 (2,96 - 3,7)	3,76 -	3,6 -	4,42 -	4,29 ± 0,6 (3,83 - 5,17)	5 ± 0,53 (4,46 - 5,7)	5,16 ± 0,55 (4,76 - 5,79)
<b>ACO</b>	2,14 ± 0,06 (2,07 - 2,24)	2,45 -	2,28 -	2,76 -	2,48 ± 0,76 (1,34 - 2,96)	3,03 ± 0,28 (2,79 - 3,42)	3,13 ± 0,2 (2,93 - 3,33)
<b>DO</b>	0,98 ± 0,1 (0,84 - 1,16)	1,27 -	1,49 -	1,48 -	1,46 ± 0,12 (1,31 - 1,58)	1,57 ± 0,18 (1,33 - 1,78)	1,85 ± 0,1 (1,75 - 1,95)
<b>DON</b>	0,65 ± 0,08 (0,42 - 0,75)	0,76 -	0,62 -	0,92 -	0,82 ± 0,08 (0,74 - 0,93)	0,94 ± 0,05 (0,89 - 1)	0,92 ± 0,07 (0,84 - 0,97)
<b>DOF</b>	1,56 ± 0,25 (1,18 - 1,88)	1,91 -	2,04 -	1,93 -	2,4 ± 0,21 (2,13 - 2,66)	2,27 ± 0,12 (2,09 - 2,35)	2,35 ± 0,18 (2,15 - 2,51)
<b>DIO</b>	0,54 ± 0,07 (0,41 - 0,62)	0,68 -	0,69 -	0,77 -	0,76 ± 0,05 (0,7 - 0,82)	0,89 ± 0,07 (0,83 - 0,99)	0,96 ± 0,1 (0,89 - 1,08)
<b>DIN</b>	0,92 ± 0,03 (0,87 - 0,98)	1,07 -	1,1 -	1,23 -	1,15 ± 0,07 (1,06 - 1,21)	1,18 ± 0,12 (1,06 - 1,31)	1,12 ± 0,05 (1,06 - 1,15)
<b>LDO</b>	1,96 ± 0,17 (1,63 - 2,18)	1,93 -	2,31 -	2,61 -	2,47 ± 0,15 (2,32 - 2,61)	2,68 ± 0,04 (2,64 - 2,73)	2,81 ± 0,2 (2,58 - 2,96)
<b>CCA</b>	12,33 ± 1,2 (10,14 - 14,35)	13,17 -	16,9 -	19,9 -	18,92 ± 0,65 (18,1 - 19,66)	20,15 ± 1,68 (18,02 - 21,63)	22,36 ± 1 (21,73 - 23,52)
<b>ACA</b>	1,61 ± 0,28 (1,28 - 2,14)	1,6 -	1,71 -	1,86 -	1,85 ± 0,02 (1,83 - 1,87)	1,92 ± 0,12 (1,8 - 2,04)	2,01 ± 0,15 (1,92 - 2,18)



**Figura 1.** Girino de *Thoropa miliaris* estágio 36 de Gosner. (A) Vista dorsal com detalhe para o menisco; (B) Vista ventral; (C) Lateral esquerda; (D) Detalhe da saia cloacal; (E) Detalhe do disco oral; (F) Detalhe do espiráculo interno.

As desovas de *Thoropa miliaris* (Figura 2) são encontradas em afloramentos de rochas graníticas-gnáissicas, por onde escorre uma fina camada de água, semelhante ao descrito para as outras espécies do gênero (Bokermann, 1965; Caramaschi e Sazima, 1884; Cocroft e Heyer, 1988; Giaretta e Facure, 2004). Os ovos não possuem pigmentação e são numerosos. Em observações feitas em Mangaratiba, Rio de Janeiro, as desovas que poderiam estar agrupadas ou isoladas (mas que poderiam ter sido depositadas por uma única fêmea) continham entre 40 e 180 ovos. As desovas são dispostas em camada única, não sendo totalmente submersas no filme d'água. Cada ovo estava fortemente aderido a rocha ou as folhas em decomposição no local da postura e nos blocos que formavam uma postura, cada ovo estava aderido a outro do conjunto. Os girinos, em diferentes estágios de desenvolvimento, são observados no mesmo lugar das desovas, sobre a rocha nua, se locomovendo e alimentando, a partir do estágio 27 de Gosner. Esse mesmo estágio também é encontrado eventualmente dentro do ovo, indicando que este seja o estágio onde normalmente ocorra a eclosão da espécie. Geralmente, na mesma região da rocha, são encontrados girinos, senão no mesmo estágio, em estágios de desenvolvimento

muito próximos. Várias desovas com girinos em diversos estágios de desenvolvimento podem ser encontradas no mesmo afloramento rochoso, com uma distância considerável entre elas.

Embora não tenha procedido a um exame do conteúdo alimentar nos intestinos dos girinos, a observação de seus intestinos, revelou que grande parte do seu conteúdo é constituída de sedimento mineral, ocupando parte considerável do volume total. A ingestão, provavelmente se dá durante o processo de alimentação que parece envolver raspagem de musgo e filme de algas da superfície da rocha.

Os girinos de *T. miliaris* permanecem em seu ambiente de nascimento e desenvolvimento até o fim do processo de metamorfose. É comum encontrar grandes grupos de recém-metamorfoseados, dias após o fim do processo.



**Figura 2.** Desovas de *Thoropa miliaris* em um afloramento rochoso em Mangaratiba – RJ; A e B, ovos com semaforontes em estágios Embrionários; C, ovos com semaforontes em estágios Pré-eclosão.

### 3.2 Morfologia Externa e Estágios de Desenvolvimento

Foi possível subdividir o desenvolvimento dos girinos em 32 estágios discretos. A seguir apresento a descrição de cada estágio com base na amostra de semaforontes observados, bem como a dos eventos e traços morfológicos utilizados em sua determinação. Nas tabelas, cada um dos estágios é associado a uma fase funcional do desenvolvimento conforme explicado abaixo. Na ocorrência de mais de uma característica diagnóstica para o estágio, a que melhor define o estágio (menos variável ou subjetiva) estará assinalada com um asterisco (\*).

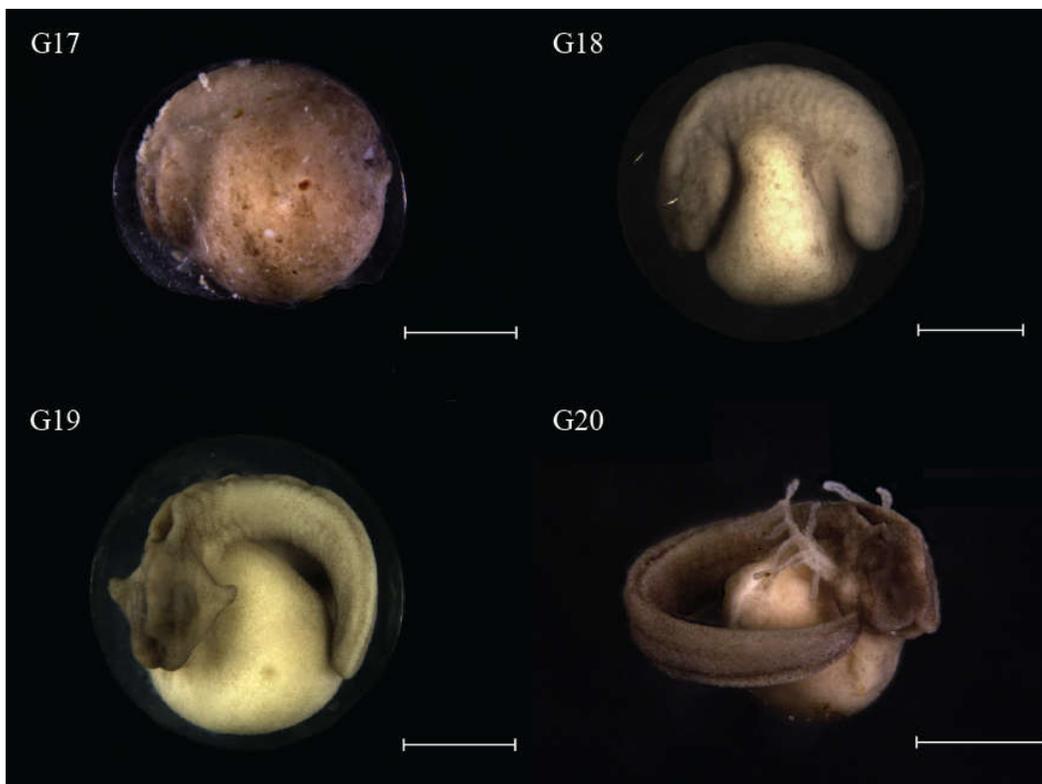
**Estágios Embrionários (Fase I):** Esse grupo de estágios abrange o desenvolvimento embrionário, desde a fecundação do ovo até o início da formação de órgãos complexos. A amostra dessa fase é limitada e representada apenas pelos estágios finais, onde os semaforontes já apresentam diferenciação dos arcos branquiais e diferentes graus de formação da boca, cauda e brânquias externas. Os estágios de desenvolvimento da fase, bem como as características determinantes e equivalentes de Gosner (1960) são apresentados na Tabela 2 e ilustrados na Figura 3.

*Estágio 17:* O embrião nesse estágio apresenta diferenciação entre a região cefálica e do broto da cauda. O tubo neural já se encontra formado, com uma abertura na porção anterior, próximo região cefálica. A placa branquial é distinta.

*Estágio 18:* Nesse estágio o embrião possui maior diferenciação cefálica e alongamento corporal. Os primeiros pares de arcos branquiais estão bem diferenciados e a abertura oral bem como a placa branquial são mais distintos. Os primórdios oculares são sutilmente visíveis e a abertura do ânus é circular.

*Estágio 19:* O embrião nesse estágio apresenta os primórdios branquiais nas laterais da região cefálica. A cápsula ótica é bem evidente, com a parte central do olho mais profunda e as aberturas nasais são visíveis. A musculatura axial é mais longa e os miômeros mais numerosos. O tubo anal, com abertura para o lado direito, do corpo (destro) também está bem diferenciado.

*Estágio 20:* A cápsula ótica nos embriões nesse estágio é maior que no anterior. O disco oral está no início de sua diferenciação, mas já se pode observar os lábios superior (com um espaço medial) e inferior. A cauda está bem diferenciada e mais longa apresenta nadadeiras dorsal e ventral ao longo de toda sua extensão. Os filamentos que compõem as brânquias externas estão bem desenvolvidos e ramificados, normalmente, em 9 sub-ramos de um ramo principal.



**Figura 3.** Tabela dos Estágios Embrionários (Fase I) para *Thoropa miliaris*. (Escala = 1mm).

**Tabela 2.** Tabela Adaptada de Gosner (1960) para os Estágios Embrionários (Fase I) de *Thoropa miliaris*.

<i>Fase</i>	<b>Estágio</b>	<b>Caráter Diagnóstico</b>	<b>Estágios equivalentes de Gosner (1960)</b>
<i>I</i>	17	Fechamento das pregas neurais, exceto região cefálica	16
		Placa branquial distinta	16
		Broto da cauda*	17
	18	Alongamento corporal	16
		Diferenciação dos arcos branquiais*	18
	19	Primórdios branquiais*	19
		Alongamento caudal	20
		Cápsula ótica evidente	21
	20	Crescimento e ramificação das brânquias externas*	19-21
		Formação das nadadeiras dorsal e ventral Formação dos lábios superior e inferior	

**Estágios Pré-eclosão (Fase II):** Os semaforontes nesse grupo de estágios ainda se encontram dentro do ovo e abrangem formas que possuem alguns órgãos complexos formados e representam a transição entre o embrião, com pouca capacidade de mobilidade e alimentado pelo vitelo, para o estágio larval com movimentação e alimentação livre, com a formação das características necessárias para tal (*e.g.* Disco oral, modificação das nadadeiras). Os estágios de desenvolvimento da fase, bem como as características determinantes e equivalentes de Gosner (1960) são apresentados na Tabela 3 e ilustrados na Figura 4.

*Estágio 23A:* Nesse estágio a parede opercular esta diferenciada, livre da parede abdominal e margeia a base das brânquias externas, que estão no máximo do seu

desenvolvimento e ramificação, geralmente apresentando dois ramos principais, um com 8-11 sub-ramos e o outros com 4 a 6 sub-ramos. Os embriões nesse estágio apresentam o disco oral mais diferenciado, podendo-se identificar as cristas labiais (geralmente sem denticulos) e bico córneo (ainda não pigmentado) e poucas papilas marginais. O bico córneo tem a aparência de vários denticulos compactados lado a lado, sendo possível observar os limites entre um e outro. As nadadeiras dorsal e ventral estão presentes em toda extensão da cauda. O abdômen é muito arredondado com a pele transparente. Ainda é possível observar muito vitelo associado ao intestino. Na parede posterior do abdômen já é possível observar os primórdios de uma projeção de pele que irão formar uma saia cloacal que recobrirá o tubo anal.

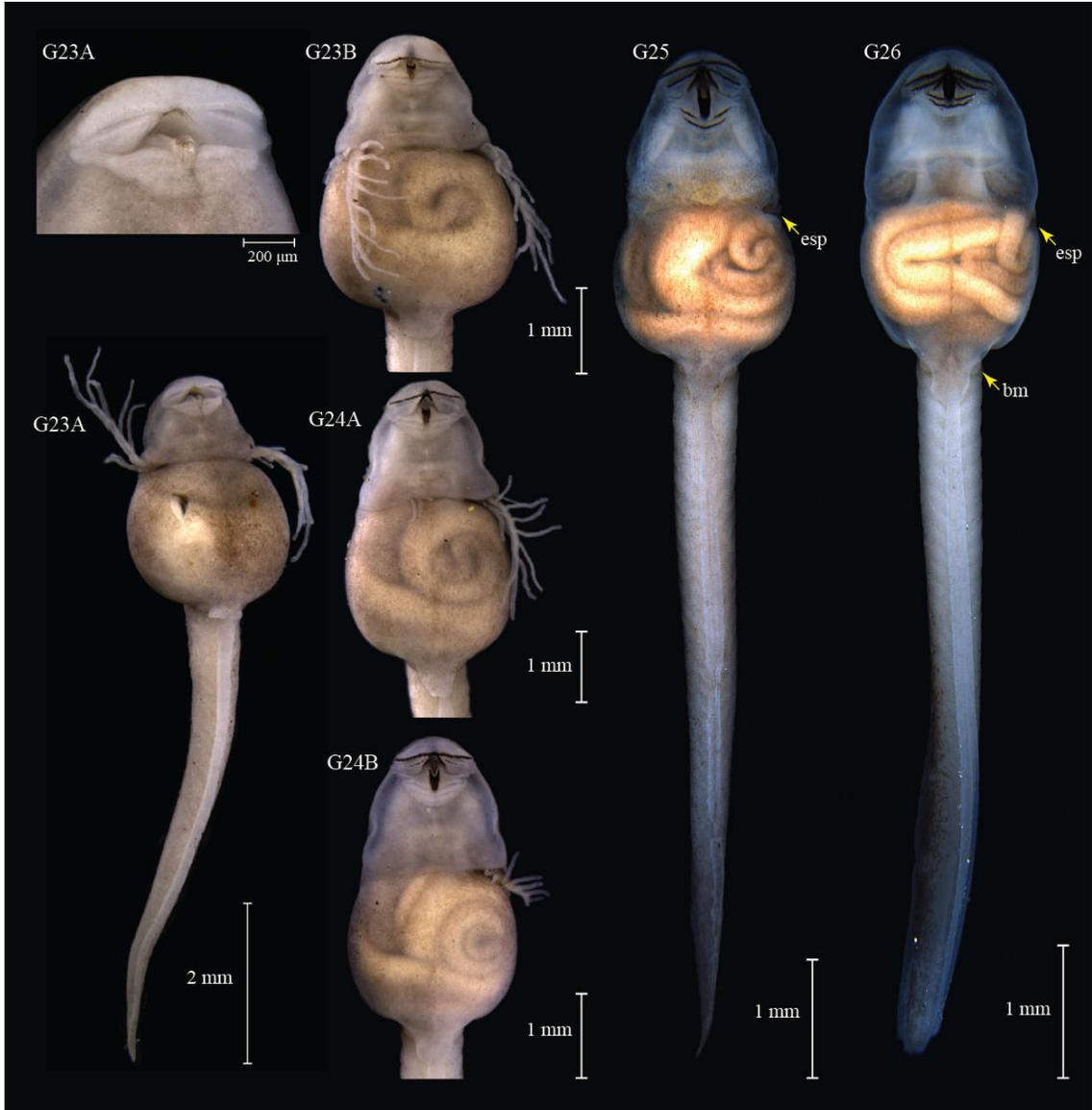
*Estágio 23B:* Nesse estágio já pode ser vista a primeira fileira de denticulos (A-1) completa, e eventualmente rudimentos da segunda (A-2). Parte do bico córneo já apresenta pigmentação e já é visível uma fileira única de papilas em torno de todo o disco oral. O opérculo é desenvolvido e recobre a base do ramo maior de brânquias externas, e o ramo menor quase totalmente. Primórdios dos brotos dos membros posteriores já estão presentes, porém minúsculos. A diferença entre a largura da região cefálica e abdominal (em vista dorsal) diminui. Comparado ao estágio anterior, a quantidade de vitelo nos intestinos é menor. Nesse estágio o número de voltas intestinais é aparentemente maior. As nadadeiras dorsal e ventral são mais pronunciadas, sendo possível observar pequenas ramificações em seu interior, embora não se possa ter certeza se representam vasos sanguíneos ou nervos. Nos olhos, o menisco, que ainda não atinge a íris está presente.

*Estágio 24A:* Esse estágio é marcado pela fusão parcial do opérculo com a parede abdominal; um terço à metade da porção direita do opérculo já está fusionado, sendo ainda possível observar a extremidade da brânquia externa direita. Nesse estágio ocorre uma ligeira diferenciação dos brotos dos membros posteriores. É possível observar um maior grau de espiralização do intestino e ainda menor quantidade relativa de vitelo. A nadadeira ventral é reduzida e modificada, com sua porção distal dobrada lateralmente e formando pequenas abas laterais. Essa modificação da forma da nadadeira é mais acentuada na metade anterior da cauda.

*Estágio 24B:* Nesse estágio o grau de fusão do opérculo com a parede abdominal é mais avançado, da metade a dois terços de sua extensão se encontra fundido e apenas parte da brânquia externa esquerda ainda é visível. Não se observa mais vestígios da nadadeira dorsal nesse estágio; a nadadeira ventral está modificada (conforme descrito anteriormente) nos dois primeiros terços da cauda. O bico córneo está maior e mais pigmentado que no estágio anterior e os denticulos do segundo cume labial da porção superior (A-2) já formam uma fileira, porém com denticulos ainda muito diminutos. O menisco nesse estágio cobre uma pequena porção da pupila.

*Estágio 25:* Nesse estágio, o opérculo está fusionado a parede abdominal quase em toda extensão da borda de contato entre os dois, uma fissura ainda é presente no lado esquerdo e não é mais possível se observar brânquias externas. O disco oral apresenta, além das duas fileiras de denticulos pigmentados da porção superior (A-1 e A-2), mais duas fileiras na porção inferior (P-1 e P-2) e a papilação do disco oral também é mais evidente.

*Estágio 26:* Nesse estágio a fusão do opérculo a parede do abdômen está completa com a formação de um tubo espiracular mais interno, a abertura do espiráculo está associada a parede lateral do corpo. Os brotos dos membros posteriores possuem comprimento menor ou igual a metade do diâmetro. As fileiras de denticulo do lábio inferior (P-1 e P-2) se tornam mais robustas. A saia abdominal, que recobre o tubo anal e parte dos membros posteriores, se torna mais evidente possui uma leve modificação em sua forma, ela tem uma constrição mediana que a divide em duas subunidades, uma mais próxima do corpo, outra mais distal. A quantidade de vitelo é muito reduzida em relação ao estágio anterior e região cranial do corpo se torna mais larga e disco abdominal é um pouco mais desenvolvido. Os semaforontes nesse estágio possuem forma semelhantes aos eclodidos.



**Figura 4.** Tabela dos Estágios Pré-eclosão (Fase II) para *Thoropa miliaris*. bm: broto do membro posterior; esp: espiráculo

**Tabela 3.** Tabela Adaptada de Gosner (1960) para os Estágios Pré-eclosão (Fase II) de *Thoropa miliaris*.

<i>Fase</i>	<i>Estágio</i>	<i>Caráter Diagnóstico</i>	<i>Estágios equivalentes de Gosner (1960)</i>
<i>II</i>	23A	Disco oral e bico córneo formados não pigmentados*	23
		Opérculo aberto e brânquias externas desenvolvidas*	23
	23B	Opérculo aberto cobrindo a base das brânquias*	23
		Brotos dos membros posteriores presentes	26
		Formação e pigmentação da fileira de denticulos A-1	25-26
	24A	Pigmentação de parte do bico córneo	24
		Formação do menisco	
	24B	Fechamento do primeiro terço do opérculo*	24
		Modificação da nadadeira ventral mais acentuada na porção anterior da cauda	25-26
	25	Formação da fileira de denticulo A-2	25
		Fechamento do opérculo*	25-26
	26	Formação das fileiras de denticulos P-1 e P-2	25
		Formação do espiráculo interno*	26
Comprimento dos membros posteriores menor que a metade do diâmetro*		26	
	Alargamento da região cefálica e formação do disco abdominal		

**Estágios Larvais (Fase III):** Neste grupo se encontram o primeiro grupo de estágios pós-eclosão, onde os indivíduos são capazes de se mover e alimentar livremente no ambiente onde vivem. As formas aqui presentes são divididas em estágios de desenvolvimento, onde as alterações observadas dizem respeito apenas as mudanças nos membros posteriores, como aumento e mudanças nas proporções dos membros (formação do esqueleto apendicular) e diferenciação individual dos dígitos e aparecimento de tubérculos metacarpais e subarticulares. Nos últimos estágios desse grupo já é possível observar claramente o desenvolvimento dos membros anteriores dentro das câmaras branquiais e a redução do disco abdominal e da saia cloacal. Os estágios de desenvolvimento da fase, bem como as características determinantes e equivalentes de Gosner (1960) são apresentados na Tabela 4 e ilustrados na Figura 5.

*Estágio 27:* É nesse estágio que ocorre a eclosão natural da larva. Podendo essa forma ser encontrada tanto dentro, como fora do ovo. O aparato oral tem proporções consideravelmente maiores em relação aos estágios anteriores, os denticulos e bico córneo se tornam mais e fortemente pigmentados (mais escuros). A terceira fileira de denticulos da porção inferior (P-3) está formada e pigmentada. O comprimento dos membros posteriores é maior ou igual a metade do diâmetro. Nos indivíduos eclodidos, o número de voltas intestinais é muito maior que no estágio anterior e o vitelo não é mais observado; a presença de sedimento arenoso no intestino dos indivíduos neste estágio, já eclodidos, indica início da atividade de alimentação. Nesse estágio observa-se também que o corpo do girino é mais achatado dorso-ventralmente. O disco de pele abdominal, a projeção, sob os membros e tubo anal e o formato da nadadeira ventral, também são achatados e bastante evidentes.

*Estágio 28:* Comprimento dos membros posteriores maior ou igual ao diâmetro.

*Estágio 29:* Comprimento dos membros posteriores maior ou igual a uma vez e meia o diâmetro.

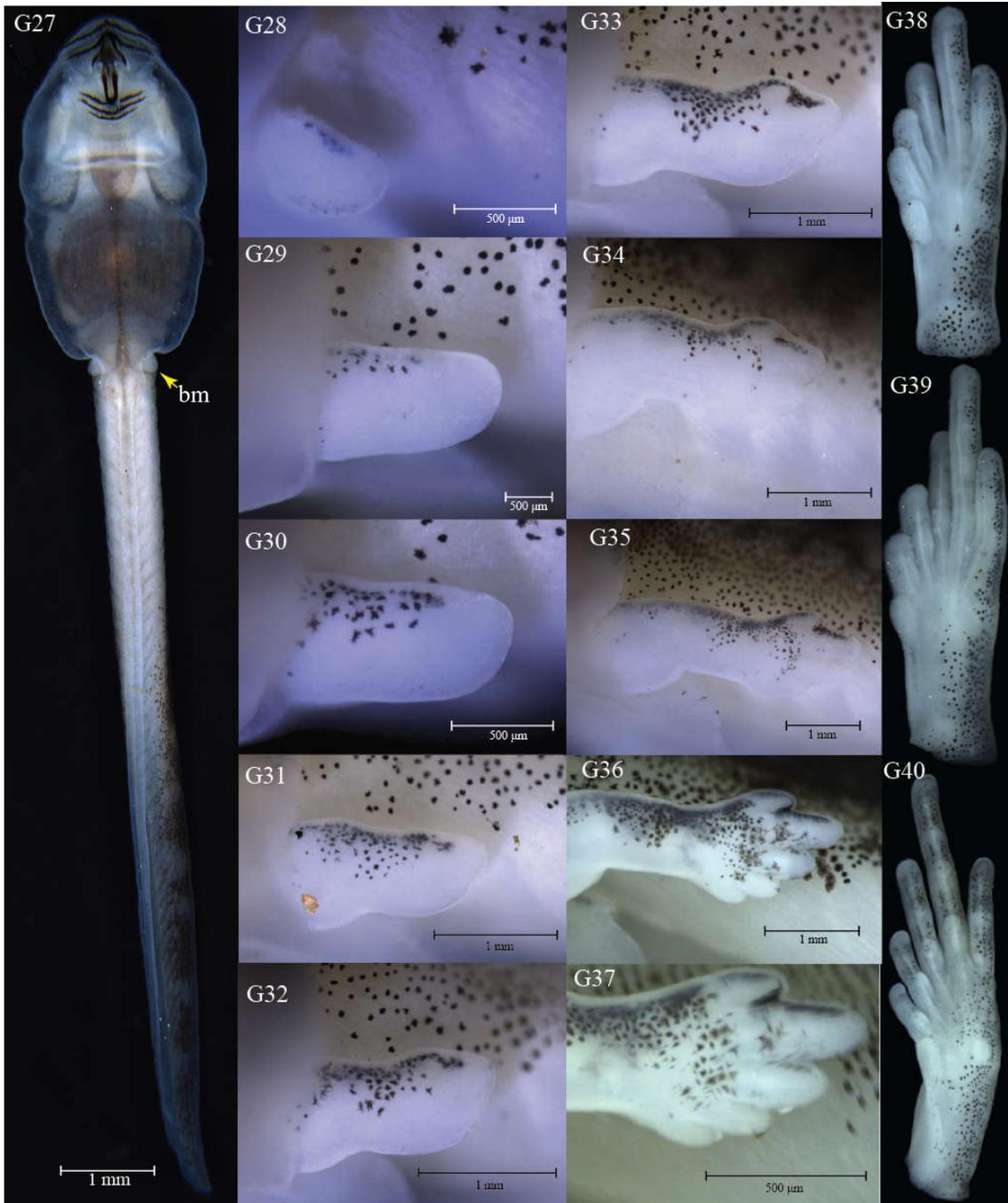
*Estágio 30:* Comprimento dos membros posteriores maior ou igual a duas vezes o diâmetro.

*Estágio 31:* Diferenciação da região mais distal do membro posterior, ou pé em forma de pá.

*Estágio 32:* Surgimento do entalhe entre os dedos 4 e 5.

*Estágio 33:* Surgimento do entalhe entre os dedos 3 e 4.

- Estágio 34*: Surgimento do entalhe entre os dedos 2 e 3.  
*Estágio 35*: Surgimento do entalhe entre os dedos 1 e 2.  
*Estágio 36*: Início da separação entre os dedos 4 e 5; 3 e 4; 2 e 3.  
*Estágio 37*: Cinco dedos separados nas extremidades, com crescimento individual.  
*Estágio 38*: Desenvolvimento dos tubérculos metatarsais.  
*Estágio 39*: Início do desenvolvimento dos tubérculos subarticulares.  
*Estágio 40*: Tubérculos subarticulares desenvolvidos. Saia cloacal muito reduzida.



**Figura 5.** Tabela dos Estágios Larvais (Fase III) para *Thoropa miliaris*; bm: broto do membro posterior.

**Tabela 4.** Tabela Adaptada de Gosner (1960) para os Estágios Larvais (Fase III) de *Thoropa miliaris*.

<i>Fase</i>	<i>Estágio</i>	<i>Caráter Diagnóstico</i>	<i>Estágios equivalentes de Gosner (1960)</i>
<i>III</i>	27	Queratinização da P3* Comprimento dos membros posteriores maior ou igual a metade do diâmetro*	26 27
	28	Comprimento dos membros posteriores maior ou igual ao diâmetro	28
	29	Comprimento dos membros posteriores maior ou igual a uma vez e meia o diâmetro	29
	30	Comprimento dos membros posteriores maior ou igual a duas vezes o diâmetro	30
	31	Diferenciação da região do pé em forma de pá	31
	32	Entalhe entre os dedos 4 e 5	32
	33	Entalhe entre os dedos 4 e 5; 3 e 4	33
	34	Entalhe entre os dedos 4 e 5; 3 e 4; 2 e 3	34
	35	Entalhe entre os dedos 4 e 5; 3 e 4; 2 e 3; 1 e 2	35
	36	Início da separação entre os dedos 4 e 5; 3 e 4; 2 e 3	36
	37	Cinco dedos separados nas extremidades e seu crescimento individual	37
	38	Desenvolvimento dos tubérculos metatarsais	38
	39	Início do desenvolvimento dos tubérculos subarticulares	39
	40	Tubérculos subarticulares desenvolvidos* Saia cloacal muito reduzida	40

**Estágios Metamórficos (Fase IV):** Esse grupo de estágios abrange o clímax do processo de metamorfose. As formas aqui encontradas sofreram uma série de alterações que irão propiciar a mudança para a forma de locomoção tetrápode própria dos anuros na fase terrestre, além de alterações tegumentares e viscerais. Os estágios de desenvolvimento da fase, bem como as características determinantes e equivalentes de Gosner (1960) são apresentados na Tabela 5 e ilustrados na Figura 6.

*Estágio 41A:* Nesse estágio é possível observar os membros anteriores flexionados, com diferenciação da mão e dedos, dentro da câmara branquial, com os cotovelos alterando levemente as laterais do corpo. A porção posterior da saia cloacal se torna muito pequena, margeando apenas o tubo anal.

*Estágio 41B:* Esse estágio é marcado pela protrusão de apenas um dos membros anteriores (ocorrência de 50% para cada membro) e regressão total da saia cloacal, expondo assim o que restou do tubo anal, que agora pode se perceber também sofreu diminuição em seu comprimento. Nesse estágio o comprimento do corpo é aproximadamente metade do comprimento da cauda.

*Estágio 42A:* Esse estágio é onde ocorre a mudança do modo de locomoção. Nesse estágio os dois membros anteriores se encontram fora das câmaras branquiais e o aparato oral característico dos estágios anteriores ainda não se modificou, mas pode possuir sinais de apoptose nas fileiras de denticulos do lábio superior. Outras mudanças notáveis são relacionadas ao formato do corpo, sendo o disco abdominal remodelado ao novo formato corporal (mais alongado e com maior diferença entre a cabeça e o tronco) e a cauda tendo iniciado um processo de regressão da extremidade posterior. Aqui o comprimento do corpo é aproximadamente três quartos o da cauda.

*Estágio 42B:* Nesse estágio a transição para o modo de locomoção tetrápode dos anuros está completo. Nele ocorre o início da metamorfose externa da boca, com as partes queratinizadas pigmentadas e o lábio inferior não estando mais presentes. O abdômen se torna menos transparente (o músculo reto abdominal está diferenciado e recobre os órgãos internos).

A diminuição do comprimento da cauda é mais significativa; sendo este, aproximadamente quatro quintos do comprimento do corpo.

*Estágio 43:* Nesse estágio o disco oral não está mais presente e a abertura da boca, posteriormente, se estende até o nível entre as narinas e os olhos, em vista lateral. A cauda está bem mais curta, sendo o comprimento da cauda aproximadamente dois terços o do corpo.

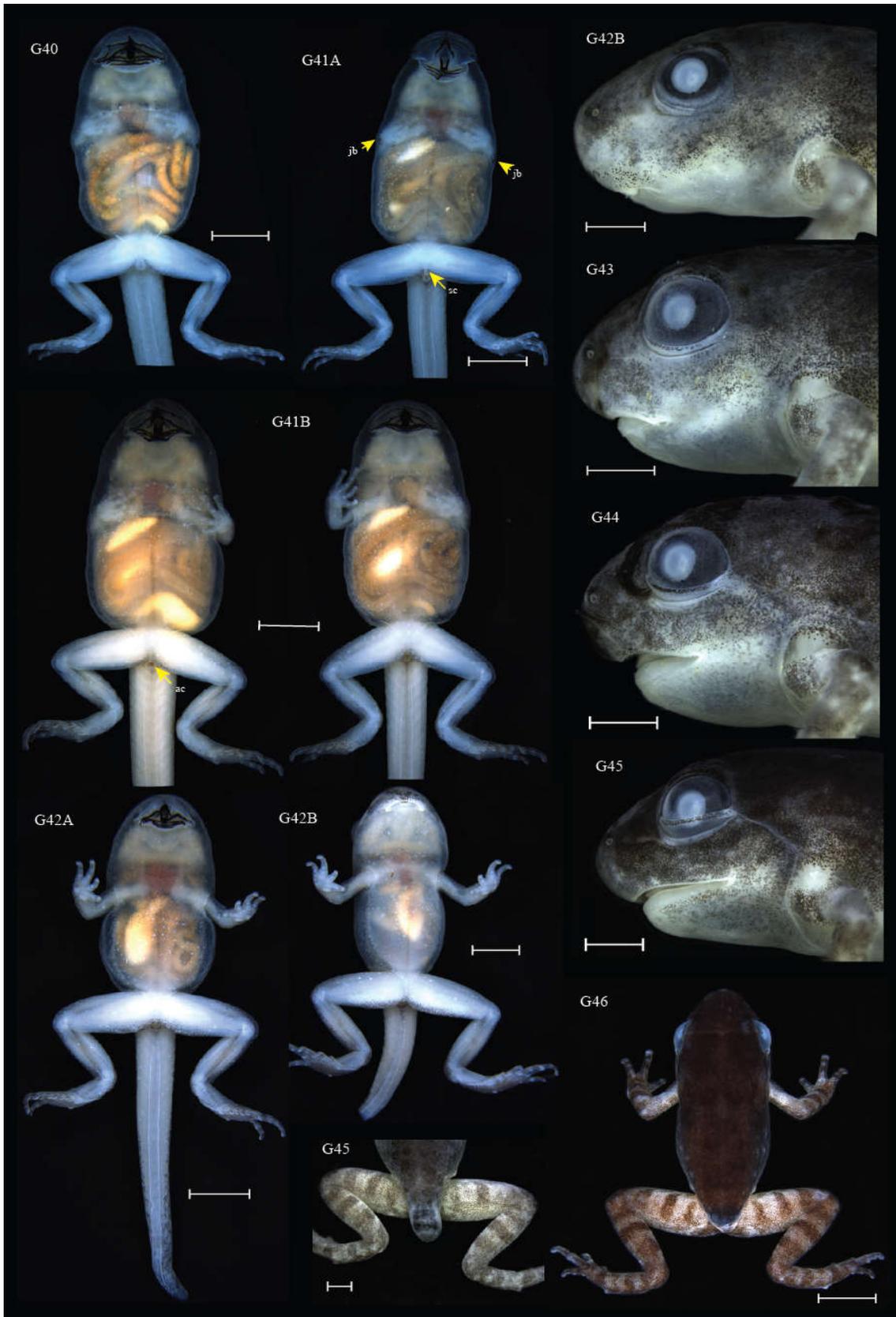
*Estágio 44:* Nesse estágio a abertura da boca, posteriormente, se estende até a região abaixo dos olhos em vista lateral. O comprimento da cauda é de aproximadamente dois quintos o do corpo.

*Estágio 45:* Nesse estágio a abertura da boca ultrapassa posteriormente a posição dos olhos, em vista lateral. O comprimento da cauda é de aproximadamente um quinto o do corpo.

*Estágio 46:* Esse estágio indica o fim do processo de metamorfose. Não se observa mais a cauda, e o menisco nos olhos também desapareceu. O padrão de coloração se torna mais parecido com o característico dos juvenis e adultos da espécie. As marcas de glândulas granulares nas laterais da porção posterior do corpo são mais evidentes.

**Tabela 5.** Tabela dos Estágios Metamórficos (Fase IV) para *Thoropa miliaris*.

<i>Fase</i>	<i>Estágio</i>	<i>Caráter Diagnóstico</i>	<i>Estágios equivalentes de Gosner (1960)</i>
<i>IV</i>	41A	Membros anteriores formados dentro da cavidade branquial Cotovelos forçando as laterais do corpo*	41 41
	41B	Protrusão de apenas um dos membros anteriores*	41-42
		Regressão total da saia Comprimento do corpo aproximadamente 1/2 o da cauda	
	42A	Dois membros fora das câmaras branquiais* Comprimento do corpo é aproximadamente 3/4 da cauda	42
	42B	Metamorfose do aparato oral*	42
		Comprimento da cauda aproximadamente 4/5 o do corpo	
	43	Abertura da boca se estende até o nível entre as narinas e os olhos*	43
		Comprimento da cauda aproximadamente 2/3 o do corpo	
	44	Extensão da boca cobre até a região abaixo dos olhos*	44
		Comprimento da cauda aproximadamente 2/5 o do corpo	
45	Extensão da boca ultrapassa posteriormente a posição dos olhos*	45	
	Comprimento da cauda aproximadamente 1/5 o do corpo		
46	Regressão completa da cauda* Regressão completa (ou quase) do menisco Glândulas evidentes nas laterais da porção posterior do corpo	46	



**Figura 6.** Tabela dos Estágios Metamórficos (Fase IV) para *Thoropa miliaris*. ac: abertura cloacal; jb: janela braquial; sc: saia cloacal. (Escala = 1mm).

## 4 DISCUSSÃO

Embora diversos aspectos da história natural das espécies de *Thoropa* sejam conhecidos para algumas das espécies (Lutz 1947, Heyer e Crombie 1979, Caramaschi e Sazima 1984, Cocroft e Heyer, 1988, Heyer *et al.*, 1990), em geral, se tem assumido que sejam comuns para todas as espécies. O que é possível afirmar, que é comum, com base em observações, é que o girino de todas as espécies vive em filmes de água em afloramentos rochosos próximos ou não de rios e riachos na mata atlântica e cerrado (Bokermann, 1965; Caramaschi e Sazima, 1984 Lutz, 1947). Além do que é reportado nas descrições das espécies, dados de biologia adicionais são em geral associados a espécie de Ubatuba, São Paulo, *T. taophora* (Consolmagno *et al.*, 2016; Giaretta e Facure, 2004), que durante grande parte do século XX esteve na sinonímia de *T. miliaris* (Feio *et al.*, 2006). Até mesmo o girino de *T. miliaris*, ainda não foi formalmente descrito. Os poucos dados para *T. miliaris* aparecem em Barth (1956) e Lutz (1947, 1954).

O que em parte esse trabalho ajudou a confirmar é que, semelhante a *T. taophora* (Giaretta e Facure, 2004), *T. miliaris* também desova e tem o desenvolvimento das larvas em afloramentos rochosos banhados por filmes de água. Nossas observações também indicam que o padrão de desova e cuidado parental são semelhantes ao observado para *T. taophora* (Consolmagno *et al.*, 2016). Os girinos de *T. miliaris* e *T. taophora* também são bastante semelhantes em sua morfologia (*e.g.* Disco abdominal pouco pronunciado; Padrão de coloração; Nadadeiras mais modificadas), mesmo comparados com outros girinos do gênero (Bokermann, 1965; Caramaschi e Sazima, 1984).

As observações aqui apresentadas para o desenvolvimento dos embriões e girinos de *T. miliaris* são novidades e como descrições de observações semelhantes, que permitam comparações com outros táxons entre os ciclorrânfídeos são inexistentes, as comparações aqui são feitas principalmente com táxons considerados mais distantes filogeneticamente, com girinos aquáticos típicos. Quando comparado a girinos exotróficos considerados mais típicos (*e.g. Leptodactylus latrans, Boana faber*, etc.), de poças ou riachos, o desenvolvimento de *T. miliaris* apresenta uma série alterações em sua trajetória ontogenética (Heterocronias) que merecem destaque. O primeiro grande conjunto de alterações ontogenéticas ocorre antes da eclosão e parece estar diretamente relacionado a formação de estruturas importantes para o desenvolvimento intracapsular (dentro do ovo) prolongado e ao aparecimento, no girino, de estruturas que permitam sobreviver e explorar habitat de seu desenvolvimento. O segundo conjunto de alterações está ligado a estruturas, comuns durante o desenvolvimento embrionário e/ou larval em diversos girinos exotróficos, que não foram observados em nenhum estágio de desenvolvimento nos embriões ou larvas de *T. miliaris*. O terceiro e último conjunto de mudanças, estão relacionadas às alterações durante o clímax da metamorfose. Estas parecem estar intimamente ligadas à mudança no modo de locomoção do girino semiterrestre para a tetrápode terrestre. Na discussão a seguir abordarei, primeiro, um conjunto de características seguindo a sequência acima apresentada (Pré-eclosão, estruturas ausentes e estruturas cujo desenvolvimento está relacionado ao clímax da metamorfose) e depois apresentarei as possíveis implicações dessas alterações para os diferentes momentos da ontogenia e na ecomorfologia da espécie.

## 4.1 O Desenvolvimento de algumas estruturas pré-eclosão em *Thoropa miliaris*

### 4.1.1 Brânquias externas

A maioria das espécies de anfíbios anuros possui, ao longo da sua história de vida, diferentes mecanismos respiratórios (alguns simultaneamente funcionais) e a contribuição de cada um dos quatro tipos de mecanismos (Brânquias externas e internas, pele e pulmões) dependem da morfologia mais fina dessas estruturas, fase do desenvolvimento, habitat e variáveis ambientais associadas ao habitat onde organismo vive na fase particular do seu desenvolvimento (Duellman e Trueb, 1986). As brânquias externas (BE) estão presentes na maioria dos girinos conhecidos, mesmo que por um curto período, durante as fases iniciais do desenvolvimento. As diferenças observadas na morfologia e no desenvolvimento destas estruturas, parecem estar associadas a ecologia das espécies e, ultimamente, história evolutiva das espécies em questão (McDiarmid e Altig, 1999). De forma geral, as brânquias externas aparecem como uma protuberância mais ou menos triangular em cada lado do corpo do embrião, posterior a cabeça e entre esta e o corpo do embrião, em torno do estágio G18. Em várias espécies de anuros, as BE apresentam seu maior comprimento entre os estágios G21-22. Entre os estágios G23-25 inicia-se um processo de degeneração das BE, e o auge deste processo ocorre associado a fusão do opérculo ao abdômen. No estágio G25 as brânquias externas não são mais observadas (Nokhbatolfoghahai e Downie, 2008).

As BE nos girinos de *T. miliaris* estão presentes apenas nos estágios que compreendem o desenvolvimento embrionário tardio (Pré-eclosão). Os brotos branquiais surgem no estágio G19. Nos estágios G20-23A ocorre o crescimento e ramificação do sistema de brânquias externas (8-11 sub-ramos de um principal e 4-6 de outro), com indicações do início da circulação (observado em um embrião ainda vivo). No estágio G23B o opérculo (que posteriormente é livre) já recobre a base das brânquias externas. Nos estágios subsequentes G24A-25, ocorre o processo de fechamento do opérculo, seguido da formação do espiráculo no estágio G26.

Dois fatores podem estar associados ao ritmo de desenvolvimento das brânquias externas em *T. miliaris*: tempo relativo de permanência nos embriões, que por sua vez pode estar associado ao ambiente de incubação. O grau de desenvolvimento e tempo de permanência dessas estruturas parece estar associado a quantidade limitada de oxigênio para os embriões (Nokhbatolfoghahai e Downie, 2008). Outras espécies que depositam seus ovos fora d'água que tem embriões que permanecem nos ovos por mais tempo (*e.g.* em Phyllomedusidae) são semelhantes quanto a esse atributo e seu desenvolvimento. E mesmo em formas livre nadantes mais típicas, que se utilizam de ambientes com restrição de oxigênio, como é o caso do hilídeo *Phytotriades auratus* em tanques de bromélias (Kenny, 1969). Esses dois exemplos apresentam brânquias externas bem desenvolvidas e eclosão tardia – G23-24 (Nokhbatolfoghahai e Downie, 2008). Somado a isso, experimentos realizados com embriões de *Agalychnis callidryas*, demonstraram que as brânquias externas apresentam plasticidade em seu desenvolvimento como resposta a quantidade de oxigênio disponível no lugar onde o ovo é depositado. Os embriões, ainda no ovo, movem-se no interior do ovo, orientando-se para posições onde as brânquias estejam orientadas, no ovo, onde o fluxo de oxigênio é maior (Warkentin, 2000, 2007).

O ambiente onde os ovos e os girinos de *T. miliaris* (das outras espécies de *Thoropa* e a maior parte das espécies de *Cycloramphus*) se desenvolvem não é compartilhado por quaisquer outras espécies de anfíbios anuros de outras famílias na região Neotropical. Embora estudos de temperatura e oxigênio dissolvido na água nesses habitats sejam praticamente inexistentes, um estudo, com *T. miliaris*, no Rio de Janeiro (Rocha *et al.*, 2002) indica que a temperatura do filme de água nas rochas é significativamente mais elevada que a da água de riachos próximos.

Como temperatura e oxigênio dissolvido são negativamente correlacionados, as condições de vida para organismos aquáticos nesses habitats devem ser bastante distintas daquelas em riachos.

Os girinos de *T. miliaris* apresentam sequência de desenvolvimento branquial semelhantes ao observado para a maioria dos grupos estudados, e possuem brânquias externas bem desenvolvidas e eclosão tardia (G27), o que é semelhante ao descrito para outras espécies de reprodução especializada em ambientes de baixa oxigenação (Nokhbatolfoghahai e Downie, 2008). É possível que em *Thoropa* e nas espécies de *Cycloramphus* que vivem em ambientes similares, a morfologia e o tempo relativo de permanência das brânquias externas representem adaptações que aumentem a chance de sobrevivência nessas condições.

#### 4.1.2 Aparato Oral

Algumas estruturas do aparato oral dos girinos dos anuros, com lábio expandido, bico córneo e denticulos em fileiras de números variáveis, representa claramente um sinapomorfia para Anura (Haas, 2003). Este conjunto morfológico da parte oral externa foi interpretado por Orton (1953) como uma única estrutura complexa, cuja evolução deu origem a quatro grupos morfológico de anuros (Tipo I, II, III, IV). Sua interpretação, com algumas mudanças (Starrett, 1973), ainda é utilizada para estudos que abordam diversificação das formas girinos (Roelants *et al.*, 2011). Mais recentemente, a estrutura do disco oral foi utilizada por Altig e Johnston (1989; ver também Duellman e Trueb, 1986) no reconhecimento de guildas ecomorfológicas para espécies de desenvolvimento endotrófico ou com larvas exotróficas. O disco oral é constituído de partes queratinizadas incluindo as porções superior e inferior do bico córneo e fileiras de denticulos dispostas nos lábios superior e inferior, que se apoiam sobre cumes labiais. A configuração mais comum 2/3, eventualmente com a presença de interrupções mediais nas fileiras. Em girinos de algumas famílias as partes queratinizadas podem estar ausentes (Microhylidae, Pipidae, rhinophrynidae e outras espécies com desenvolvimento endotrófico). A organização das estruturas do disco oral de girinos possui forma única e são usadas como características diagnosticas para a identificação dos girinos (Altig, 2007, McDiarmid e Altig, 1999).

Embora ainda existam poucos estudos que trataram da sequência de eventos associados ao desenvolvimento das estruturas orais em larvas de anuros, assume-se que as sequências sejam semelhantes em táxons distintos (Thibaudeau e Altig, 1988). Em geral, o início da formação da boca ocorre entre os estágios G17-21. A formação do disco oral ocorre nos estágios 21-25. A formação dos cumes labiais ocorre na sequência: (AR-1 + PR-2), PR-1, AR-2, PR-3 e serrações na bainha mandibular e maxilar a partir do estágio G23. A queratinização dos denticulos começa no estágio G25 na ordem (A-1+ P-2), P-1, A-2, P-3 (essa última queratiniza apenas quando o processo nas outras está completo).

O disco oral nos girinos de *T. miliaris*, apesar de apresentar traços comuns ao desenvolvimento relatado na literatura para os girinos livre nadantes (ver Thibaudeau e Altig, 1988), apresentam mudanças heterocrônicas consideráveis. A primeira diferença relaciona-se ao início precoce (aceleração) do processo de queratinização do bico córneo e dos denticulos e a segunda na mudança na sequência de adição das fileiras de denticulos. Tais alterações, na sequência e momento de formação das estruturas, aparentemente não resultam em grandes diferenças na forma final do disco oral dos girinos de *T. miliaris* em relação a girinos de Neobatrachia típicos (Ver Duellman e Trueb, 1986). Porém essas pequenas alterações no ritmo do desenvolvimento das partes orais, podem estar associados a adaptações dessas larvas ao ambiente onde vivem. Os girinos de *T. miliaris* parecem utilizar o bico córneo para se ancorarem e para movimentação na rocha (Barth, 1956; Bokermann, 1965). A eclosão dos

girinos já com essas peças bucais funcionais – que representa aceleração no desenvolvimento – pode significar uma adaptação para manutenção desses girinos em ambiente tão inclinado e sujeito a enxurradas com as chuvas mais intensas.

#### 4.1.3 Nadadeiras caudais

Barth (1956) relatou que as nadadeiras dorsal e ventral estão ausentes nos girinos de *T. miliaris* e que a porção ventral da cauda possui o que ele chamou de *bordo saliente longitudinal*. Adicionalmente Barth interpretou essa estrutura como flexível que se ajusta a superfície rochosa e auxilia o girino em sua locomoção e que esta seria homóloga (uma versão transformada) a nadadeira ventral dos outros girinos.

O desenvolvimento das nadadeiras em *T. miliaris* também apresenta diferenças quando comparado ao das nadadeiras de girinos livre nadantes (McDiarmid e Altig, 1999). O início da formação da cauda dos girinos de *T. miliaris* ocorre no estágio G17, sob a forma de um broto e sofre um significativo alongamento a partir do estágio G19. As nadadeiras, dorsal e ventral, aparecem, simultaneamente, no estágio G20 e estão bastante pronunciadas no estágio G23A-23B. A partir do estágio G24A a nadadeira ventral começa a sofrer alterações na forma e no estágio G24B a dorsal desaparece. No estágio G27 (estágio de eclosão) a nadadeira ventral está completamente modificada – sua forma é a de uma estrutura dobrada lateralmente, em porções iguais, sobre o seu eixo vertical.

É curioso que um girino não nadante presente, nos estágios iniciais de seu desenvolvimento, nadadeiras relativamente bem desenvolvidas. Algumas observações de embriões vivos, neste estágio, ainda no ovo, sugerem que as nadadeiras possam ser utilizadas para locomoção dentro do ovo – os embriões mudam de posição com movimentos rápidos da cauda. A mudança de forma que ocorre na nadadeira ventral parece estar associada a proteção da musculatura caudal contra o atrito nas rochas, conforme sugerido por Barth (1956). Dois mecanismos, distintos, discutidos por teóricos do estudo do desenvolvimento, podem estar relacionados ao desenvolvimento da cauda em *T. miliaris*. O primeiro relacionado da aceleração do desenvolvimento relativo a reabsorção da nadadeira dorsal, que ocorre nas espécies nadantes durante o clímax da metamorfose. O segundo associado a mudança no padrão espacial de uma estrutura, a heterotopia – ou neoformação – (Fabrezi *et al.*, 2014) ligado a mudanças na forma da nadadeira ventral.

#### 4.2 Desenvolvimento durante o clímax da metamorfose em *Thoropa miliaris*

Na maioria espécies nadantes conhecidas a formação dos membros anteriores ocorre dentro da câmara branquial e a protrusão dos mesmos ocorre associada (ou concomitante) com a regressão das partes do disco oral (ver Gosner, 1960 e Nodzenski e Inger, 1990). Em *T. miliaris* esse acoplamento, ou sincronicidade, entre o desaparecimento da boca do girino e a emergência dos braços não se observa. Os membros anteriores e a boca da larva coexistem por algum tempo. Vários exemplares na amostra tinham os membros anteriores expostos e boca larval. Mais uma vez, essas mudanças que tanto aceleração na emergência das patas, como desaceleração na regressão das peças bucais larvais, parecem estar associadas a vida no ambiente de filme d'água em afloramentos rochosos conforme sugerido por Barth (1956) e Bokermann (1965) e semelhante ao descrito por Nodzenski e Inger (1990) para girinos de cachoeira de Bornéu.

### 4.3 A presença e ontogenia do menisco nas larvas de *Thoropa*, seu desenvolvimento e implicações filogenéticas para Cycloramphidae

Miranda-Ribeiro (1920) foi o primeiro a reportar a presença de uma pequena e pigmentada projeção dorso-medial da íris sobre a pupila nos olhos dos anuros. A estrutura, referida como menisco, foi descrita baseada em observações de espécimes adultos de *Cycloramphus* (então *Iliodiscus*). Mais tarde, a estrutura foi documentada em outras espécies da família Cycloramphidae (Lutz, 1929, 1943, 1944, 1954; Heyer, 1983; Lima et al., 2010; Silva & Overnay, 2012).

Em *T. miliaris*, o menisco se forma ainda no ovo (G23B), tendo seu formato e tamanho característicos já na eclosão. Durante o desenvolvimento dos girinos, é notável que o menisco regride e não é visível macroscopicamente após a metamorfose. O menisco foi observado nas larvas de *Cycloramphus* e *Zachaenus* (Lima et al., 2010; Lutz, 1943, 1954; da Silva e Overnay, 2012). Em um estudo que se encontra em vias de publicação, dissecções mostraram que estrutura larval em *Cycloramphus lithomimeticus* é semelhante a estrutura do adulto. Enquanto em *Thoropa* o menisco desaparece durante a ontogenia, aparentemente via apoptose, em *Cycloramphus* e *Zachaenus* permanece através da vida adulta (Pedomorfose). Embora estudos baseados em cortes histológicos ainda sejam necessários em uma amostra maior de representantes de outras espécies conhecidas, especula-se que o menisco está presente em todas as espécies de *Cycloramphus* e *Zachaenus*, ambos em larvas e adultos. Heyer (1983) sugeriu que o menisco está presente em todas as espécies dos gêneros *Cycloramphus* e *Zachaenus* e, portanto, representaria uma sinapomorfia entre os dois gêneros. Com as informações sobre a presença e ontogenia do menisco em girinos de *Thoropa*, a interpretação pode ser expandida e a estrutura pode representar uma sinapomorfia para a família Cycloramphidae, mais especificamente, seu desenvolvimento nos estágios larvais, de espécies dos três gêneros da família.

### 4.4 Estruturas comuns em girinos nadantes e ausentes em *Thoropa miliaris*

#### 4.4.1 Glândulas adesivas

Simultaneamente ao desenvolvimento do disco oral e a degeneração das brânquias externas, em espécies com larvas exotróficas nadantes, desenvolve-se uma estrutura (ou um par de estruturas) denominada glândula adesiva (GA). Através dessa glândula, os embriões ou larvas produzem uma secreção mucosa e pegajosa, que permite que indivíduos recém eclodidos, com baixa capacidade locomotora, fiquem aderidos a diversas superfícies (e.g. superfície de plantas aquáticas) até que suas funções motoras se desenvolvam e eles consigam nadar ativamente (Duellman e Trueb, 1986; Nokhbatolfoghahai e Downie, 2005). Nas espécies com larvas exotróficas nadantes a GA já apresenta sua morfologia característica nos estágios iniciais do desenvolvimento (G13-17) ainda dentro do ovo e é comumente observada nos indivíduos recém-eclodidos (G17-21), sofrendo apoptose completa assim que o girino consiga nadar e se alimentar e independente (G25-26) (Gosner, 1960; Nokhbatolfoghahai e Downie, 2005).

Duellman e Trueb (1986) generalizam que, em espécies onde os embriões apresentam desenvolvimento intracapsular longo e eclodem em estágios mais avançados, as GA podem ser efêmeras e em espécies que apresentam desenvolvimento direto com ovos terrestres (e.g. Brachycephaloidea) estas glândulas não estão presentes. Em um estudo mais recente sobre a morfologia dessas estruturas, Nokhbatolfoghahai e Downie (2005) não encontraram vestígios de GA em três espécies das 20 examinadas (*Phyllomedusa trinitatis*, *Eleutherodactylus urichi* e *Leptodactylus fuscus*), todas depositam ovos grandes com vitelo abundante, possuem

desenvolvimento intracapsular prolongado e reprodução e desenvolvimento em locais especializados (e.g. folha acima da água, desenvolvimento terrestre, ninho de espuma respectivamente).

Nos girinos de *T. miliaris*, a nível de morfologia bruta, as GA não foram observadas em nenhum estágio do desenvolvimento embrionário ou larval, mesmo que de forma vestigial ou efêmera. Pelos critérios desenvolvidos por Duellman e Trueb (1986), *T. miliaris* também apresenta desenvolvimento intracapsular prolongado e eclosão tardia (G26-27), assim como as espécies em situação semelhante estudadas na literatura.

#### 4.4.2 Sistema de linhas laterais

Comum entre os vertebrados aquáticos e tetrapodas basais viventes (Lissamphibia), o sistema de linhas laterais (SLL) é um sistema sensorial que está presente nas três ordens viventes de anfíbios. Entre os Caudata (Salamandras) e os Gymnophiona (Cecilias) ambos sistemas, eletro- e mecano-receptor, estão presentes (com perda dos mecano-receptor em algumas espécies de Gymnophiona). Enquanto em Anura, não se observa o sistema de eletro-receptores, apenas os órgãos mecano-receptores, os neuromastos estão presentes (Fritzscht *et al.*, 1984; Quinzio e Fabrezi, 2014). O SLL em anuros é primariamente uma característica larval, perdida completamente durante o processo de metamorfose, exceto nos pipídeos viventes, no dicroglossídeo, *Occidozyga laevis* e no Ceratofrídeo, *Lepidobatrachus laevis*, que retêm as estruturas (ou parte delas) nas formas adultas (McDiarmid e Altig, 1999; Fritzscht *et al.*, 1987). Entre os anfíbios anuros com desenvolvimento direto o SLL pode estar completamente ausente, como ocorre nas espécies do gênero *Eleutherodactylus* (Schlosser *et al.*, 1999) e no leiopelmatídeo, *Leiopelma* (Stephenson, 1951).

Através de observações em grandes aumentos, com lupas estereoscópicas, que nos permite, por exemplo, observar sistemas de linhas laterais em girinos de hilídeos, hilodídeos e leptodactilídeos, não foi possível obter qualquer indício de que um SLL esteja presente nas larvas de *T. miliaris*. Entretanto, é possível que através de análises histológicas e de ultraestrutura (microscopia eletrônica de varredura) seja possível determinar com mais certeza o grau de perda do sistema. Caso se confirme que *T. miliaris* não apresente SLL, esta condição se assemelha com a observada para espécies com desenvolvimento direto, em que o estágio larval funcional foi completamente perdido. Mais uma vez, uma interpretação adaptativa teria lugar aqui. Como o fluxo de água é constante, embora efêmero, a leitura do ambiente por esse sistema, poderia causar interpretações duvidosas para a larva e ser inútil ou até mesmo desvantajosa neste tipo de habitat.

#### 4.5 Considerações ecomorfológicas

As peculiaridades morfológicas e na sequência de desenvolvimento observadas para *T. miliaris* podem estar associadas a processos de seleção natural envolvendo adaptações que favoreceram o estabelecimento do ancestral dos táxons que se diferenciou em *Thoropa* e *Cycloramphus* neste ambiente de pouca água e afloramentos rochosos muito inclinados. Embora este estudo só incluía uma espécie neste complexo de espécies, as semelhanças no uso de habitat e na morfologia das larvas (Lutz, 1954, 1947, 1948). Embora sejam larvas claramente exotróficas, alguns detalhes no desenvolvimento de *T. miliaris* e na quantidade de vitelo nos ovos, se assemelham ao desenvolvimento intracapsular de espécies endotróficas (Thibaudeau e Altig, 1999). A seguir apresentarei, com base nas observações morfológicas e ontogenéticas

das larvas, uma análise das etapas mais importantes da história do girino e suas possíveis implicações ecomorfológicas.

#### 4.5.1 Desenvolvimento embrionário e pré-eclosão

De forma geral, as estruturas que se desenvolvem e sofrem regressão durante a fase embrionária de *T. miliaris*, salvo algumas exceções, são muito semelhantes às observadas para a maioria das espécies exotróficas. Porém em *T. miliaris* é possível observar mudanças heterocrônicas na sequência de formação e regressão dessas estruturas, em relação a sequência ontogenética consideradas mais comuns ou generalizadas.

Nos girinos de *T. miliaris* não está claro se a ausência de glândulas adesivas e do sistema de linhas laterais (e possivelmente das glândulas de nascimento) é completa, porém, não foi possível observar estes órgãos com o uso de lupas estereoscópicas e isso parece ser um indicativo de que haja ao menos uma grande redução nesses sistemas. A perda ou redução desses órgãos estão intimamente relacionadas a um longo desenvolvimento intracapsular ou endotrofia (Duellman e Trueb, 1986; McDiarmid e Altig, 1999) e pode estar relacionada a perda da competência ectodérmica em responder sinais indutivos, eliminando ou reduzindo (dependendo do grau) a formação de estruturas derivadas dela (Fang e Elinson, 1996; Schlosser, 2002a).

Os girinos de *T. miliaris* antes da eclosão já possuem a forma achatada, cauda longa e olhos salientes, assim como observado para as demais espécies do gênero (Bokermann, 1965). Pode-se supor que, muito além dessas generalidades morfológicas, os girinos de *T. miliaris* antes da eclosão (em seu desenvolvimento normal) apresentam pleno desenvolvimento de todas as características que já permitiria eclodir e sobreviver no ambiente de rocha nua, como disco oral, espiráculo interno, disco abdominal e saia cloacal, menisco, modificação na nadadeira ventral e ausência da dorsal.

#### 4.5.2 Eclosão e nascimento

Nos anfíbios anuros, dois mecanismos básicos estão associados com a eclosão (Duellman e Trueb, 1986). O primeiro, apenas conhecido em espécies do gênero *Eleutherodactylus*, um dente de ovo (original *egg tooth*), que atua de forma mecânica, cortando o ovo. O segundo, mais comum, as glândulas de eclosão (original *hatching gland*), atuam quimicamente, produzindo enzimas que alteram a parede das cápsulas e permitem a eclosão. O modo de eclosão nos anuros é conhecido para poucas espécies. Nos anuros assume-se que as formas de eclosão parecem estar mais intimamente associadas com o modo e o sítio de desenvolvimento, apresentando pouca relação com a história filogenética (Duellman e Trueb, 1986), ou, em outras palavras, representando um grau elevado de convergência. Na literatura, há informações consideráveis sobre a estrutura e função das glândulas de eclosão (Nokhbatolfoghahai e Downie, 2007), porém poucas observações foram feitas para um conjunto mais amplo de espécies no que diz respeito a diferenças no tempo e no processo de eclosão, bem como no comportamento do embrião pré-eclosão (Hoff *et al.*, 1999).

Os mecanismos envolvidos na eclosão dos girinos de *T. miliaris* ainda são obscuros, mas através de observações de campo e laboratório algumas questões puderam ser levantadas. Os girinos de *T. miliaris* apresentam uma aceleração relativa na formação das partes queratinizadas do disco oral, principalmente do bico córneo. É possível que o bico córneo (e talvez os dentículos) nos indivíduos pré-eclosão atue de forma análoga ao dente de ovo, presente nos indivíduos do gênero *Eleutherodactylus*. Foi observado que girinos em estágios

mais avançados de desenvolvimento dentro do ovo (com maior grau de desenvolvimento das partes orais) eclodiam com mais frequência quando a desova era perturbada. Também foi observada uma espécie de “janela no ovo”, que se abre na camada mais externa, expondo assim a cápsula mais interna. Tal mecanismo pode ser uma especialização do que foi observado para alguns bufonídeos, leptodactylídeos e hylídeos com ovos aquáticos, onde o surgimento de uma fenda na camada mais externa dos ovos permite a emergência das camadas mais internas antes da eclosão propriamente dita (Duellman e Trueb, 1986). Mais observações do comportamento dos embriões e estudos de ultraestrutura ainda são necessárias para descrever a estrutura do ovo e determinar a presença ou ausência de glândulas de eclosão nos girinos de *T. miliaris* e esclarecer como se dá a eclosão na espécie.

#### 4.5.3 Metamorfose

Durante o clímax do processo de metamorfose as espécies de anuros com trajetórias ontogenéticas e habitats considerados generalistas, das diferentes famílias, exibem associações entre eventos específicos, como a emergência dos membros anteriores com a perda das partes orais larvais e apoptose da cauda (Gosner, 1960; Nodzenski e Inger, 1990). Em *T. miliaris* a relação entre o desenvolvimento dessas estruturas sofreu um desacoplamento. Onde o disco oral permanece, inalterado externamente, por algum “tempo” após a emergência dos membros anteriores, enquanto a cauda sofre uma brusca redução de comprimento nesse mesmo período. Alterações semelhantes foram relatadas nas espécies com girinos habitantes de cachoeiras pertencentes a família Ranidae do gênero *Amolops* e a família Bufonidae *Ansonia longidigita* (Nodzenski e Inger, 1990). Nessas espécies o disco oral, dentículos e bico córneo (e em *Amolops*, também a ventosa abdominal) são retidas por mais tempo relativo durante o clímax da metamorfose (em relação a regressão da cauda e emergência dos braços).

Durante o clímax da metamorfose, ou seja, o intervalo entre a emergência dos membros anteriores e a completa regressão da cauda, os indivíduos são mais vulneráveis a predação, pois sua eficiência locomotora ainda é reduzida (Wassersug e Sperry, 1977). A alteração heterocrônica associada a apoptose do disco oral em relação a protrusão dos membros anteriores nos girinos com hábitos saxícolas (filme d’água ou cachoeira) pode estar associado a um mecanismo adaptativo que proporciona diminuição do risco de predação na fase pré-metamórfica (ver Nodzenski e Inger, 1990).

#### 4.6 Considerações sobre o desenvolvimento na família Cycloramphidae

O exame de amostras de girinos de outras duas espécies do gênero *Thoropa*, *T. megatypanum* e *T. taophora* indica que as alterações no desenvolvimento, observadas em *T. miliaris*, sejam comuns também para essas espécies e possivelmente para todo o gênero. Nas amostras de *T. megatypanum* e *T. taophora*, nenhum girino em estágios abaixo do G28 e G27, respectivamente, estava presente, indicando que a eclosão também aconteça em estágios avançados. Adicionalmente, na amostra de *T. megatypanum* foram identificados girinos com apenas um dos membros anteriores emergidos e em *T. taophora*, com ambos, mas ainda com disco oral presente.

Entre os ciclorrânídeos, além de generalidades comportamentais, morfológicas e reprodutivas, que permitem a identificação e dois grupos ecomorfológicos dentro da família (saxícola/exotrófico e terrestre/endotrófico), de modo geral, tanto as larvas exotróficas quanto as endotróficas, apresentam desenvolvimento intracapsular prolongado, com eclosão ocorrendo em torno dos estágios G26 e G30, respectivamente (Verdade, 2005), estes mais avançados

quando comparados as espécies exotróficas nadantes (G17-21). Os registros da literatura para os dois grupos no clado que agrupa *Cycloramphus* e *Zachaenus* (Verdade, 2005) relatam os girinos eclodem com o disco oral formado (com a fórmula básica 2/3) e com cauda longa e musculosa com nadadeiras vestigiais (ver Lutz, 1944).

Todas as espécies conhecidas da família Cycloramphidae exibem, como traços mais marcantes de sua biologia, hábitos altamente especializados de reprodução (*e.g.* desova em afloramentos rochosos e terrestre) e girinos ecomorfológicamente diferenciados. Além das generalidades ecomorfológicas mencionadas anteriormente, foi possível observar similaridades no desenvolvimento que nos permite especular, que essas alterações, tenham surgido e se fixado em um ancestral comum durante a evolução do grupo. Informações acerca do desenvolvimento das espécies de ciclórranfídeos são raras, porém são de suma importância para a compreensão sobre a biologia, ecologia e sistemática do grupo.

#### **4.7 Tabelas de Desenvolvimento e Sistema de Determinação de Estágios de desenvolvimento de Anuros**

Devido à grande diversidade e facilidade de observação de estruturas efêmeras nos estágios larvais, que se formam, sofrem remodelamento ou desaparecem, via apoptose, durante o desenvolvimento pré-metamorfose dos anuros (*e.g.* Disco oral, brânquias externas e internas, cauda, espiráculo, estrutura dos olhos, membros anteriores e posteriores) diversos sistemas e tabelas de desenvolvimento foram criados, em um primeiro momento, a fim de listar e padronizar esses eventos (Fox, 1984; Just *et al.*, 1981). O crescente número de trabalhos de pesquisa nas áreas experimentais e no ensino de embriologia e fisiologia no fim do século XIX até meados do XX, criaram a demanda de que se conhecesse o desenvolvimento normal (natural) dos indivíduos das espécies para que eventuais anomalias fossem observadas durante os estudos. Embora esses sistemas funcionassem bem na classificação e comparação de estágios de girinos com o desenvolvimento chamado por alguns autores de “normal” de vida livre (Just *et al.*, 1981), eles nunca chegaram próximo de contemplar a diversidade de formas do grupo, hoje com 6866 espécies (Frost 2018), mesmo para as formas mais comuns, consideradas generalistas, com larvas livres nadantes. Por conta da diversidade de formas, em um segundo momento, outras tabelas de desenvolvimento, representativa de formas distintas do padrão geral, foram desenvolvidas (Townsend e Stewart, 1985; Bavay, 1993).

Das quase 7000 espécies conhecidas de anuros, para não mais que 50 espécies foram desenvolvidas tabelas de estágios de desenvolvimento. Fox (1984) e Duellman e Trueb (1986) apresentam resumos das tabelas conhecidas até então. Entre esses trabalhos, observou-se que um grande número apresentava informações gerais do desenvolvimento das larvas ou contemplava apenas uma pequena fase do desenvolvimento. Um sumário das tabelas mais consistentes encontradas é apresentado no Apêndice B. Foram consideradas “tabelas consistentes” aquelas que possuíam uma descrição de detalhes dos eventos que ocorrem em pelo menos alguma das fases do desenvolvimento da espécie (*e.g.* embrionário e/ou larval) e um sistema de estágios próprio ou adaptado de outros trabalhos (*e.g.* Gosner, 1960) e que representassem as peculiaridades do desenvolvimento das espécies estudadas. Além disso foram coletados na literatura dados sobre o modo de desenvolvimento (*e.g.* exotrófico, endotrófico com larva e endotrófico direto), sítio reprodutivo e de desenvolvimento (*e.g.* poça ou temporária, riacho, ninhos superficiais ou subterrâneos, bolsa de ovos) e suas respectivas distribuições. Foram encontradas tabelas de desenvolvimento construídas para 30 espécies, representantes de 15 famílias, que por sua vez são descrevem o desenvolvimento para espécies que ocorrem nas diferentes regiões biogeográficas do planeta.

Ao se confrontar as informações contidas nas tabelas aqui comparadas e que estão listadas no Apêndice B, deve-se levar em conta a relação entre as morfologias exploradas em cada uma delas. Algumas espécies permitem a observação, por transparência, de órgãos internos, como os braços, o intestino e até a musculatura abdominal (*M. rectus abdominalis*). Isso aumenta o número de estruturas que podem ser observadas e utilizadas na construção das tabelas, elevando o número de estágios como como é o caso de *Xenopus laevis* (Nieuwkoop e Faber, 1956). Além disso, existe relação forte entre o modo de desenvolvimento (endotrófico e exotrófico) e o número de estágios determinados. Em geral, as espécies endotróficas apresentam menos estágios (ver Townsend e Stewart, 1985; Mitchell e Swain, 1996). Entretanto, mais uma vez, isso deve ser um reflexo da possibilidade de observação de um conjunto maior de detalhes anatômicos. Uma outra questão envolvida no número de estágios é a observação de outros conjuntos de caracteres, como os de anatomia de vísceras e seu desenvolvimento (Nieuwkoop e Faber (1956).

Durante a análise dos girinos de *T. miliaris*, foram encontrados diversos semaforontes que não puderam ser incluídos em um dos estágios de desenvolvimento segundo os critérios utilizados por Gosner (1960). Uma das razões para isso é que os girinos de *T. miliaris* apresentam sobreposição e desacoplamento de eventos de formação nas diferentes fases do desenvolvimento, porém, de forma geral, foi possível realizar aproximações com base nas estruturas apresentadas pelos semaforontes. A outra razão relaciona-se a possibilidade de observar algumas estruturas por transparência, principalmente as envolvidas no desenvolvimento dos braços. Em espécies com pigmentação escura mais intensa, isso não é possível. A inclusão dos semaforontes nos estágios definidos por Gosner (1960) se torna ainda mais difícil de ser feita com espécies que apresentam desenvolvimento endotrófico (com larva ou direto), pelo alto grau de divergência dos eventos durante a ontogenia (ver de Bavay, 1993).

Os estágios de desenvolvimento são abstrações de formas e eventos que conseguimos observar durante a ontogenia das espécies, portanto devemos ser cautelosos quanto a classificações e comparações entre espécies distintas, para que elas não sejam apenas hábitos costumeiros e sem fundamento, o que não quer dizer que não devamos fazê-las. A construção de tabelas de desenvolvimento é uma ferramenta importante, que nos permite, entre outras coisas, compreender a sequência de eventos ontogenéticos e/ou realizar comparações entre espécies de diferentes grupos. Além disso, como no caso de *T. miliaris* aqui apresentado, a construção de uma tabela, permitiu o ordenamento da informação sobre desenvolvimento e com isso a compreensão de que o processo de adaptação que envolveu mudanças na morfologia dos ancestrais de Cycloramphidae, envolveram não só a transformação de algumas estruturas transitórias nas larvas, mas também mudanças no ritmo de desenvolvimento, ou heterocrônicas, como alguns modelos teóricos postulam, (Fabrezi, 2012; Fabrezi *et al.*, 2014; Smith, 2001, 2002, 2003).

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERCH, P.; ALBERCH, J. Heterochronic mechanisms of morphological diversification and evolutionary change in the neotropical salamander, *Bolitoglossa occidentalis* (Amphibia: Plethodontidae). **Journal of Morphology**, v. 167, n. 2, p. 249-264, 1981.
- ALBERCH, P.; GOULD, S. J.; OSTER, G. F.; WAKE, D. B. Size and shape in ontogeny and phylogeny. **Paleobiology**, v. 5, n. 3, p. 296-317, 1979.
- ALTIG, R. A primer for the morphology of anuran tadpoles. **Herpetological conservation and biology**, v. 2, n. 1, p. 71-74, 2007.
- ALTIG, R.; JOHNSTON, G. F. Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. **Herpetological monographs**, p. 81-109, 1989.
- ANSTIS, M. Direct development in the Australian myobatrachid frog *Metacrinia nichollsi* from Western Australia. **Records of the Western Australian Museum**, v. 24, p. 133-150, 2008.
- ANSTIS, M.; ROBERTS, J. D.; ALTIG, R. Direct development in two myobatrachid frogs, *Arenophryne rotunda* Tyler and *Myobatrachus gouldii* Gray, from Western Australia. **Records-Western Australian Museum**, v. 23, n. 3, p. 259, 2007.
- ARAÚJO, O. G.; HADDAD, C. F.; SILVA, H. R.; PUGENER, L. A. A simplified table for staging embryos of the pipid frog *Pipa arrabali*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 3, p. 1875-1887, 2016.
- ARTHUR, W. The emerging conceptual framework of evolutionary developmental biology. **Nature**, v. 415, n. 6873, p. 757, 2002.
- BAHIR, M. M.; MEEGASKUMBURA, M.; MANAMENDRA-ARACHCHI, K.; SCHNEIDER, C. J.; PETHIYAGODA, R. Reproduction and terrestrial direct development in Sri Lankan shrub frogs (Ranidae: Rhacophorinae: *Philautus*). **The Raffles Bulletin of Zoology**, v. 12, p. 339-350, 2005.
- BA-OMAR, T.; AMBU-SAIDI, I.; AL-BAHRY, S.; AL-KHAYAT, A. Embryonic and larval staging of the Arabian Toad, *Bufo arabicus* (Amphibia: Bufonidae). **Zoology in the Middle East**, v. 32, n. 1, p. 47-56, 2004.
- BARTH, R. Observações anatômicas sobre a larva de *Thoropa miliaris* (Amphibia, Leptodactylidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 54, n. 3, p. 489-497, 1956.
- BOKERMANN, W. C. A. Notas sobre as espécies de *Thoropa* Fitzinger (Amphibia, Leptodactylidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 37, n. 3/4, p. 525-537, 1965.
- BURGGREN, W. W.; WARBURTON, S. Amphibians as animal models for laboratory research in physiology. **ILAR journal**, v. 48, n. 3, p. 260-269, 2007.
- CARAMASCHI, U.; SAZIMA, I. Uma nova espécie de *Thoropa* da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil (Amphibia, Leptodactylidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 2, n. 3, p. 139-146, 1983.
- CHAKRAVARTY, P.; BORDOLOI, S.; GROSJEAN, S.; OHLER, A.; BORKOTOKI, A. Tadpole morphology and table of developmental stages of *Polypedates teraiensis* (Dubois, 1987). **Alytes**, v. 27, n. 3, p. 85-115, 2011.
- CHIPMAN, A. D. Variation, plasticity and modularity in anuran development. **Zoology**, v. 105, n. 2, p. 97-104, 2002.
- COCHRAN, D. M. Diagnoses of new frogs from Brazil. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 51, p. 41-42, 1938.
- COCROFT, R. B.; HEYER, W. R. Notes on the frog genus *Thoropa* (Amphibia: Leptodactylidae) with a description of a new species (*Thoropa saxatilis*). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 101, n. 1, p. 209-220, 1988.

- CONSOLMAGNO, R. C.; REQUENA, G. S.; MACHADO, G.; BRASILEIRO, C. A. Costs and benefits of temporary egg desertion in a rocky shore frog with male-only care. **Behavioral ecology and sociobiology**, v. 70, n. 5, p. 785-795, 2016.
- DA SILVA, H. R.; OVERNAY, D. A new species of stream-dwelling frog of the genus *Cycloramphus* (Anura, Cycloramphidae) from the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Zootaxa**, v. 3407, n. 1, p. 49-60, 2012.
- DEBAVAY, J. M. The Developmental Stages of the Sphagnum Frog, *Kyarranus-Sphagnicolus* Moore (Anura, Myobatrachidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 41, n. 2, p. 151-201, 1993.
- DE BEER, G. **Embryos and Ancestors**. Ed. 1. Oxford: Oxford Univ. Press, 1940.
- DEL CONTE, E.; SIRLIN, J. L. Pattern series of the first embryonary stages in *Bufo arenarum*. **The Anatomical Record**, v. 112, n. 1, p. 125-135, 1952.
- DEL PINO, E. M.; ESCOBAR, B. Embryonic stages of *Gastrotheca riobambae* (Fowler) during maternal incubation and comparison of development with that of other egg-brooding hylid frogs. **Journal of Morphology**, v. 167, n. 3, p. 277-295, 1981.
- DUBOIS, A. Keratodont formulae in anuran tadpoles: proposals for a standardization. **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 33, n. 3-4, 1995.
- DUELLEMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of amphibians**. JHU press, 1986.
- EMERSON, S. B. Heterochrony and frogs: the relationship of a life history trait to morphological form. **The American Naturalist**, v. 127, n. 2, p. 167-183, 1986.
- ETKIN, W. Growth and resorption phenomena in anuran metamorphosis. I. **Physiological Zoology**, v. 5, n. 2, p. 275-300, 1932.
- FABREZI, M. Epigénesis y epigenética: Ejemplos a partir de la morfología de los renacuajos. **Cuadernos de Herpetología**, v. 30, n. 1, 2016.
- FABREZI, M. Heterochrony in growth and development in anurans from the Chaco of South America. **Evolutionary Biology**, v. 38, n. 4, p. 390-411, 2011.
- FABREZI, M. Heterocronía y variación morfológica en anuros. **Cuadernos de herpetología**, v. 26, n. 1, p. 29-47, 2012.
- FABREZI, M.; CRUZ, J. C. Ontogeny of the thyroid glands during larval development of South American horned frogs (Anura, Ceratophryidae). **Evolutionary Biology**, v. 41, n. 4, p. 606-618, 2014.
- FABREZI, M.; GOLDBERG, J. Heterochrony during skeletal development of *Pseudis platensis* (Anura, Hylidae) and the early offset of skeleton development and growth. **Journal of Morphology**, v. 270, n. 2, p. 205-220, 2009.
- FABREZI, M.; QUINZIO, S. I.; CRUZ, J. C.; CHULIVER PEREYRA, M.; MANZANO, A. S.; ... & GOLDBERG, J. Forma, tamaño y tiempo en la ontogenia de Anfibios y Reptiles. **Cuadernos de Herpetología**, v. 31, 2017.
- FABREZI, M.; QUINZIO, S. I. Morphological evolution in Ceratophryinae frogs (Anura, Neobatrachia): the effects of heterochronic changes during larval development and metamorphosis. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 154, n. 4, p. 752-780, 2008.
- FABREZI, M.; QUINZIO, S. I.; GOLDBERG, J. Giant tadpole and delayed metamorphosis of *Pseudis platensis* Gallardo, 1961 (Anura, Hylidae). **Journal of Herpetology**, v. 43, n. 2, p. 228-243, 2009.
- FABREZI, M.; QUINZIO, S. I.; GOLDBERG, J. The ontogeny of *Pseudis platensis* (Anura, Hylidae): heterochrony and the effects of larval development on postmetamorphic life. **Journal of Morphology**, v. 271, n. 4, p. 496-510, 2010.
- FABREZI, M.; QUINZIO, S. I.; GOLDBERG, J.; CRUZ, J. C.; PEREYRA, M. C.; WASSERSUG, R. J. Developmental changes and novelties in ceratophryid frogs. **EvoDevo**, v. 7, n. 1, p. 5, 2016.

- FABREZI, M.; QUINZIO, S.; GOLDBERG, J.; DE SÁ, R. O. The development of *Dermatonotus muelleri* (anura: microhylidae: gastrophryinae). **Journal of Herpetology**, v. 46, n. 3, p. 363-380, 2012.
- FABREZI, M.; QUINZIO, S. I.; CRUZ, J. C.; GOLDBERG, J.; CHULIVER PEREYRA, M. ¿Qué es lo nuevo en la evolución morfológica?. **Cuadernos de herpetología**, v. 28, n. 2, p. 119-136, 2014.
- FANG, H.; ELINSON, R. P. Patterns of Distal-less gene expression and inductive interactions in the head of the direct developing frog *Eleutherodactylus coqui*. **Developmental biology**, v. 179, n. 1, p. 160-172, 1996.
- FEIO, R. N.; NAPOLI, M. F.; CARAMASCHI, U. Considerações taxonômicas sobre *Thoropa miliaris* (Spix, 1824), com revalidação e redescrição de *Thoropa taophora* (Miranda-Ribeiro, 1923)(Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Arquivos do Museu Nacional**, v. 64, n. 1, p. 41-60, 2006.
- FOUQUET, A.; BLOTTO, B. L.; MARONNA, M. M.; VERDADE, V. K.; JUNCA, F. A.; DE SA, R.; RODRIGUES, M. T. Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 67, n. 2, p. 445-457, 2013.
- FOX, H. **Amphibian morphogenesis**. Clifton, New Jersey: Humana Press, 1984.
- FRITZSCH, B.; DREWES, R. C.; RUIBAL, R. The retention of the lateral-line nucleus in adult anurans. **Copeia**, p. 127-135, 1987.
- FRITZSCH, B.; NIKUNDIWE, A. M.; WILL, U. Projection patterns of lateral-line afferents in anurans: A comparative HRP study. **Journal of Comparative Neurology**, v. 229, n. 3, p. 451-469, 1984.
- FROST, D. R. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0. 2018. American Museum of Natural History, New York, USA. Electronic Database accessible at <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>>. Acesso em: 07 mar. 2018.
- GIARETTA, A. A.; FACURE, K. G.. Reproductive ecology and behavior of *Thoropa miliaris* (Spix, 1824)(Anura, Leptodactylidae, Telmatobiinae). **Biota Neotropica**, v. 4, n. 2, p. 1-9, 2004.
- GOLDBERG, J.; FABREZI, M. Development and variation of the anuran webbed feet (Amphibia, Anura). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 152, n. 1, p. 39-58, 2008.
- GÓMEZ, M. L.; ZARACHO, V. H.; SANDOVAL, M. T. Desarrollo embrionario-larval y metamorfosis de *Physalaemus albonotatus* (Anura: Leptodactylidae). **Revista veterinaria**, v. 27, n. 1, p. 21-27, 2016.
- GOSNER, K. L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v. 16, n. 3, p. 183-190, 1960.
- GOULD, S. J. **Ontogeny and phylogeny**. Harvard University Press, 1977.
- GRANT, T.; FROST, D. R.; CALDWELL, J. P.; GAGLIARDO, R. O. N.; HADDAD, C. F.; KOK, P. J.; ... & WHEELER, W. C. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). **Bulletin of the American Museum of natural History**, p. 1-262, 2006.
- GRENAT, P. R.; GALLO, L. M. Z.; SALAS, N. E.; MARTINO, A. L. External changes in embryonic and larval development of *Odontophrynus cordobae* Martino et Sinsch, 2002 (Anura: Cycloramphidae). **Biologia**, v. 66, n. 6, p. 1148, 2011.
- HAAS, A. Non-feeding and feeding tadpoles in hemiphractine frogs: larval head morphology, heterochrony, and systematics of *Flectonotus goeldii* (Amphibia: Anura: Hylidae). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 34, n. 3, p. 163-171, 1996.
- HAAS, A. Phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters (Amphibia: Anura). **Cladistics**, v. 19, n. 1, p. 23-89, 2003.

- HAAS, A. The larval hyobranchial apparatus of discoglossoid frogs: its structure and bearing on the systematics of the Anura (Amphibia: Anura). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 35, n. 4, p. 179-197, 1997.
- HALL, J. A.; LARSEN JR, J. H.; FITZNER, R. E. Postembryonic ontogeny of the spadefoot toad, *Scaphiopus intermontanus* (Anura: Pelobatidae): external morphology. **Herpetological Monographs**, p. 124-178, 1997.
- HADDAD, C. F. B.; PRADO, C. P. A. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 207-217, 2005.
- HANDRIGAN, G. R.; WASSERSUG, R. J. The anuran Bauplan: a review of the adaptive, developmental, and genetic underpinnings of frog and tadpole morphology. **Biological Reviews**, v. 82, n. 1, p. 1-25, 2007.
- HARRIS, R. N. The anuran tadpole: evolution and maintenance. **Tadpoles: the biology of anuran larvae**, p. 279-294, 1999.
- HEYER, W. R.; CROMBIE, R. I. Natural history notes on *Craspedoglossa stejnegeri* and *Thoropa petropolitana* (Amphibia: Salientia, Leptodactylidae). **Journal of the Washington Academy of Sciences**, p. 17-20, 1979.
- HEYER, W. R.; RAND, A. S.; DA CRUZ, C. A. G.; PEIXOTO, O. L., & NELSON, C. E. frogs of Boracéia. **Arquivos de Zoologia (São Paulo)**, v. 31, n. 4, p. 231-410, 1990.
- HEYER, W. R. Variation and systematics of frogs of the genus *Cycloramphus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Arquivos de Zoologia (São Paulo)**, v. 30, n. 4, p. 235-339, 1983.
- HENNIG, W. **Phylogenetic Systematics**. University of Illinois Press, Urbana, Chicago, London, 1966.
- HOFF, K. VS.; BLAUSTEIN, A. R.; MCDIARMID, R. W.; ALTIG, R. Behavior: Interactions and Their Consequences. **Tadpoles: the biology of anuran larvae**. 1999. Cap. 9 p. 215-239
- HOPWOOD, N. A history of normal plates, tables and stages in vertebrate embryology. **The International journal of developmental biology**, v. 51, n. 1, p. 1, 2007.
- IWASAWA, H.; FUTAGAMI, J. Normal stages of development of a tree frog, *Hyla japonica* Günther. **Jpn. J. Herpetol**, v. 14, p. 129-142, 1992.
- JUST, J. J.; KRAUS-JUST, J.; CHECK, D. A. Survey of chordate metamorphosis. In: **Metamorphosis**. Boston: Springer. 1981. Cap. 9, p. 265-326.
- KENNY, J. S. The amphibia of Trinidad. **Studies on the fauna of Curaçao and other Caribbean islands**, v. 29, n. 1, p. 1-78, 1969.
- KHAN, M. S. A normal table of *Bufo melanostictus* Schneider. **Biologica**, v. 11, p. 1-39, 1965.
- KHAN, M. S. A normal table of *Rana tigrina* Daudin 1. Early development (stages 1-27). **Pakistan Journal of Science**, v. 21, p. 36-50, 1969.
- LARSON, P. M. Ontogeny, phylogeny, and morphology in anuran larvae: morphometric analysis of cranial development and evolution in *Rana* tadpoles (Anura: Ranidae). **Journal of morphology**, v. 264, n. 1, p. 34-52, 2005.
- LIMA, A. M.; GAREY, M. V.; NOLETO, R. B.; VERDADE, V. K. Natural history of the Lutz's Frog *Cycloramphus lutzorum* Heyer, 1983 (Anura: Cycloramphidae) in the Brazilian Atlantic forest: description of the advertisement call, tadpole, and karyotype. **Journal of Herpetology**, v. 44, n. 3, p. 360-371, 2010.
- LIMBAUGH, B. A.; VOLPE, E. P.. Early development of the Gulf Coast toad, *Bufo valliceps* Wiegmann. **American Museum novitates**; n. 1842. 1957.
- LUTZ, B. Anfíbios anuros do distrito federal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 52, n. 1, p. 155-197, 1954.
- LUTZ, B. Observations on the life history of the Brazilian frog *Oocormus microps*. **Copeia**, v. 1943, n. 4, p. 225-231, 1943.
- LUTZ, B. **Biologia e taxonomia de *Zachaeus parvulus***. Boletim do Museu Nacional de Zoologia, Rio de Janeiro 17: 1-65.1944.

- LUTZ, B. Ontogenetic evolution in frogs. **Evolution**, v. 2, n. 1, p. 29-39, 1948.
- LUTZ, A. Taxonomy and biology of the genus *Cyclorhamphus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 22, n. 1, p. 5-25, 1929.
- LUTZ, B. Trends towards non-aquatic and direct development in frogs. **Copeia**, v. 1947, n. 4, p. 242-252, 1947.
- LYNCH, J. D. **Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of leptodactyloid frogs**. 1971.
- MAGLIA, A. M.; PUGENER, L. A.; TRUEB, L. Comparative development of anurans: using phylogeny to understand ontogeny. **American Zoologist**, v. 41, n. 3, p. 538-551, 2001.
- MARTÍN-DURÁN, J. M.; PASSAMANECK, Y. J.; MARTINDALE, M. Q.; HEJNOL, A. The developmental basis for the recurrent evolution of deuterostomy and protostomy. **Nature ecology & evolution**, v. 1, n. 1, p. 0005, 2016.
- MAXSON, L. R.; HEYER, W. R. Leptodactylid frogs and the Brazilian Shield: an old and continuing adaptive relationship. **Biotropica**, p. 10-15, 1982.
- MCDIARMID, R. W.; ALTIG, R. (Ed.). **Tadpoles: the biology of anuran larvae**. Chicago: University of Chicago Press, 1999.
- MIRANDA, N. E. D. O.; MEDEIROS MACIEL, N.; PÊSSOA TEPEDINO, K.; SEBEN, A. Internal larval characters in anuran systematic studies: a phylogenetic hypothesis for *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 53, n. 1, p. 55-66, 2015.
- MIRANDA-RIBEIRO, A. O gênero *Telmatobius* já foi constatado no Brasil?. **Revista do Museu Paulista**, v. 12, p. 261-278, 1920.
- MITCHELL, N.; SWAIN, R. Terrestrial development in the Tasmanian frog, *Bryobatrachus nimbus* (Anura: Myobatrachinae): larval development and a field staging table. In: **Papers and proceedings of the Royal Society of Tasmania**. v. 130. No. 1. p. 75-80. 1996.
- MÜLLER, G. B. Evo–devo: extending the evolutionary synthesis. **Nature reviews genetics**, v. 8, n. 12, p. 943, 2007.
- NAVARRO ACOSTA, G.; BALDO, D.; KOLENC, F.; BORTEIRO, C.; VERA CANDIOTI, F. Embryonic morphology in five species of *Hypsiboas* (Anura: Hylidae). **Herpetological Journal**, v. 27, n. 2, p. 121-132, 2017.
- NAVARRO ACOSTA, G.; VERA CANDIOTI, M. F.. Alometría y heterocronías durante el desarrollo temprano de cinco especies de *Hypsiboas* (Anura: Hylidae). **Cuadernos de Herpetología**, v. 31, n. 1, 2017.
- NIEUWKOOP, P. D.; FABER, J. **Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin): a systematical and chronological survey of the development from fertilized egg till the end of metamorphosis**. North-Holland Publishing Company, 1956.
- NOBLE, G. K. **The biology of the Amphibia**. New York, 1931.
- NODZENSKI, E.; INGER, R. F. Uncoupling of related structural changes in metamorphosing torrent-dwelling tadpoles. **Copeia**, p. 1047-1054, 1990.
- NOKHBATOLFOGHAI, M.; DOWNIE, J. R. Amphibian hatching gland cells: pattern and distribution in anurans. **Tissue and Cell**, v. 39, n. 4, p. 225-240, 2007.
- NOKHBATOLFOGHAI, M.; DOWNIE, J. R. Larval cement gland of frogs: comparative development and morphology. **Journal of morphology**, v. 263, n. 3, p. 270-283, 2005.
- NOKHBATOLFOGHAI, M.; DOWNIE, J. R. The external gills of anuran amphibians: comparative morphology and ultrastructure. **Journal of Morphology**, v. 269, n. 10, p. 1197-1213, 2008.
- NUNES-DE-ALMEIDA, C. H.; ASSIS, C. L.; FEIO, R. N.; TOLEDO, L. F. Redescription of the advertisement call of five species of *Thoropa* (Anura, Cycloramphidae), including recordings of rare and endangered species. **PloS one**, v. 11, n. 9, p. e0162617, 2016.

- ORTON, G. L. The systematics of vertebrate larvae. **Systematic Zoology**, v. 2, n. 2, p. 63-75, 1953.
- POLLISTER, A. W.; MOORE, J. A. Tables for the normal development of *Rana sylvatica*. **The anatomical record**, v. 68, n. 4, p. 489-496, 1937.
- PUGENER, L. A.; MAGLIA, A. M.; TRUEB, L. Revisiting the contribution of larval characters to an analysis of phylogenetic relationships of basal anurans. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 139, n. 1, p. 129-155, 2003.
- PYRON, R. A.; WIENS, J. J. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 61, n. 2, p. 543-583, 2011.
- QUINZIO, S.; FABREZI, M. Ontogenetic and structural variation of mineralizations and ossifications in the integument within ceratophryid frogs (Anura, Ceratophryidae). **The Anatomical Record**, v. 295, n. 12, p. 2089-2103, 2012.
- RAFF, R. A. Evo-devo: the evolution of a new discipline. **Nature Reviews Genetics**, v. 1, n. 1, p. 74, 2000.
- RAUHAUS, A.; GAWOR, A.; PERL, R. G. B.; SCHELD, S.; VAN DER STRAETEN, K.; ... & ZIEGLER, T. Larval development, stages and an international comparison of husbandry parameters of the Vietnamese Mossy Frog *Theloderma corticale* (Boulenger, 1903) (Anura: Rhacophoridae). **Asian Journal of Conservation Biology**, v. 1 n. 2, p. 51-66 2012.
- REBOUÇAS, R.; SILVA, H. R.; SANUY, D. Froghood: Postmetamorphic development of the rock river frog *Thoropa miliaris* (Spix, 1824)(Anura, Cycloramphidae). **Acta Zoologica**, 2017.
- RICHARDSON, M. K.; KEUCK, G. Haeckel's ABC of evolution and development. **Biological Reviews**, v. 77, n. 4, p. 495-528, 2002.
- ROCHA, C. F. D.; VAN SLUYS, M.; GODOY BERGALLO, H.; ALVES, M. A. S. Microhabitat use and orientation to water flow direction by tadpoles of the leptodactylid frog *Thoropa miliaris* in southeastern Brazil. **Journal of herpetology**, v. 36, n. 1, p. 98-100, 2002.
- RONG-CHUAN, X. I. O. N. G.; JIAN-PING, J. I. A. N. G.; LIANG, F. E. I.; BIN, W. A. N. G.; CHANG-YUAN, Y. E. Embryonic development of the concave-eared torrent frog with its significance on taxonomy. **Zoological Research**, v. 31, n. 5, p. 490-498, 2010.
- SCHELD, S.; BINA PERL, R. G.; RAUHAUS, A.; KARBE, D.; VAN DER STRAETEN, K.; HAUSWALDT, S.; ... ZIEGLER, T. Larval morphology and development of the Malagasy frog *Mantidactylus betsileanus*. **Salamandra**, v. 49, p. 186-200, 2013.
- SCHLOSSER, G. Development and evolution of lateral line placodes in amphibians.–II. Evolutionary diversification. **Zoology**, v. 105, n. 3, p. 177-193, 2002a.
- SCHLOSSER, G.; KINTNER, C.; NORTHCUTT, R. G. Loss of ectodermal competence for lateral line placode formation in the direct developing frog *Eleutherodactylus coqui*. **Developmental Biology**, v. 213, n. 2, p. 354-369, 1999.
- SHIMIZU, S.; OTA, H. Normal Development of *Microhyla ornata*: The First Description of the Complete Embryonic and Larval Stages for the Microhylid Frogs (Amphibia: Anura). **Current herpetology**, v. 22, n. 2, p. 73-90, 2003.
- SHUMWAY, W. Stages in the normal development of *Rana pipiens* I. External form. **The Anatomical Record**, v. 78, n. 2, p. 139-147, 1940.
- SMITH, K. K. Heterochrony revisited: the evolution of developmental sequences. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 73, n. 2, p. 169-186, 2001.
- SMITH, K. K. Sequence heterochrony and the evolution of development. **Journal of morphology**, v. 252, n. 1, p. 82-97, 2002.
- SMITH, K. K. Time's arrow: heterochrony and the evolution of development. **International Journal of Developmental Biology**, v. 47, n. 7-8, p. 613-621, 2003.

- STARRETT, P. H. Evolutionary patterns in larval morphology. In: **Evolutionary Biology of the Anurans. Contemporary Research on Major Problems**. Univ. Missouri. Press, Columbia. 1973. Cap. 7 p. 251-271.
- STEPHENSON, N. G. Observations on the development of the amphicoelous frogs, *Leiopelma* and *Ascaphus*. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 42, n. 283, p. 18-28, 1951.
- TAYLOR, A. C.; KOLLROS, J. J. Stages in the normal development of *Rana pipiens* larvae. **The Anatomical Record**, v. 94, n. 1, p. 7-23, 1946.
- THIBAudeau, G.; ALTIG, R. Endotrophic anurans: development and evolution. In: **Tadpoles: the biology of anuran larvae**. 1999. Cap. 7 p. 170-188
- THIBAudeau, D. G.; ALTIG, R. Sequence of ontogenetic development and atrophy of the oral apparatus of six anuran tadpoles. **Journal of Morphology**, v. 197, n. 1, p. 63-69, 1988.
- TOWNSEND, D. S.; STEWART, M. M. Direct development in *Eleutherodactylus coqui* (Anura: Leptodactylidae): a staging table. **Copeia**, p. 423-436, 1985.
- VALERO, K. C. W.; GARCIA-PORTA, J.; RODRÍGUEZ, A.; ARIAS, M.; SHAH, A.; RANDRIANIAINA, R. D.; ... ; METZLER, D. Transcriptomic and macroevolutionary evidence for phenotypic uncoupling between frog life history phases. **Nature communications**, v. 8, p. 15213, 2017.
- VERA CANDIOTI, M. F., HAAD, B., PEREYRA, M. O., BORNSCHEIN, M. R., BORTEIRO, C., ... & RON, S. Structural and heterochronic variations during the early ontogeny in toads (Anura: Bufonidae). **Herpetological Monographs**, v. 30, n. 1, p. 79-118, 2016.
- VERA CANDIOTI, M. F.; NUÑEZ, J. J.; ÚBEDA, C. Development of the nidicolous tadpoles of *Eupsophus emiliopugini* (Anura: Cycloramphidae) until metamorphosis, with comments on systematic relationships of the species and its endotrophic developmental mode. **Acta Zoologica**, v. 92, n. 1, p. 27-45, 2011.
- VERDADE, V. K. Relações filogenéticas entre as espécies dos gêneros *Cycloramphus* Tschudi 1838 e *Zachaenus* Cope 1866 (Anura, Leptodactylidae). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo. 2005.
- WAKE, M. H. Morphology and herpetology: how and why they interact. **Journal of Herpetology**, v. 46, n. 3, p. 279-296, 2012.
- WANG, S.; ZHAO, L.; LIU, L.; YANG, D.; KHATIWADA, J. R.; WANG, B.; JIANG, J. A Complete Embryonic Developmental Table of *Microhyla fissipes* (Amphibia, Anura, Microhylidae). **Asian Herpetological Research**, v. 8, n. 2, p. 108-117, 2017.
- WARKENTIN, K. M. Environmental and developmental effects on external gill loss in the red-eyed tree frog, *Agalychnis callidryas*. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 73, n. 5, p. 557-565, 2000.
- WARKENTIN, K. M. Oxygen, gills, and embryo behavior: mechanisms of adaptive plasticity in hatching. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 148, n. 4, p. 720-731, 2007.
- WASSERSUG, R. J.; SPERRY, D. G. The relationships of locomotion to differential predation on *Pseudacris triseriata* (Anura: Hylidae). **Ecology**, v. 58, n. 4, p. 830-839, 1977.
- WASSERSUG, R. J. The adaptive significance of the tadpole stage with comments on the maintenance of complex life cycles in anurans. **American Zoologist**, p. 405-417, 1975.
- ZOCCA, C. Z.; LIRIO, F. F.; FERREIRA, R. B. Observações sobre história natural de *Zachaenus carvalhoi* Izecksohn, 1983 "1982" (Amphibia: Anura: Cycloramphidae). **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, n. 34, 2014.

## APÊNDICES

Apêndice A. Material analisado (Girinos)

**Estado:** LOCALIDADE: *Coleção Tombo*: Estágio (n)

### *Thoropa megatympanum*

**Minas Gerais:** BRUMADINHO: *UFMG-GIR 750*: 40(1). *UFMG-GIR 887*: 28(1); 31(2); 33(1); 35(4); 36(1); 37(1); 38(1); 39(4); 40(3); 44(1). BUENÓPOLIS: *UFMG-GIR 677*: 33(3); 34(6); 35(4); 36(1); 37(1). CARDEAL MOTA: *UFMG-GIR 139*: 29(1); 30(1); 31(5); 32(1); 33(3); 37(2); 38(3); 39(1); 40(1); CONCEIÇÃO DO MATO DENTRO: *UFMG-GIR 556*: 40(1). FECHADOS: *UFMG-GIR 43*: 38(2); 39(1); 40(2); 41 (2). ITAMBÉ DO MATO DENTRO: *UFMG-GIR 8*: 28(4); 35(2). RIO PARDO DE MINAS: *UFMG-GIR 532*: 34(1); 36(2); 37(1); 38(1); 41(4). SANTANA DO PIRAPAMA: *UFMG-GIR 267*: 45(4). SANTANA DO RIACHO: *UFMG-GIR 158*: 28(1); 29(4); 30(3); 33(1); 34(3); 35(1); 36(3); 37(1); 39(1); 40(3); 41(5); 41(8). SÃO GONÇALO DO RIO PRETO: *UFMG-GIR 252*: 33(2); 37(2); 38(2). DIAMANTINA: *UFMG-GIR 386*: 34(2); 35(1).

### *Thoropa miliaris*

**Rio de Janeiro:** FLORESTA DA TIJUCA: *RU-GIR 60*: 28 (11); 29(5); 30(6); *RU-GIR 61*: 33 (1); 34(1); 35 (1) 36(4); 40(4); 41(5); 42(1); 43(1); 44(1). ILHA DA MARAMBAIA: *RU-GIR 62*: 27(2); 28(4); 36(3); 38(1). *RU-GIR 63*: 27(1); 28(8); 29(4); 34(1); 41(1). *RU-GIR 64*: 26(2); 27(1); 33(2). *RU-GIR 65*: 38(1); 41(1); 42(1); 46(2). *RU-GIR 68*: 28(25); 29(20); 30(15); 31(7); 32(4); 33(6); 34(5); 35(3); 36(2); 37(9); 38(10); 39(3); 40(17); 41(1); 42(12); 43(3); 44(3); 45(5); 46(8). ILHA DE JAGUANUM: *RU-GIR 66*: 28(1); 29(4); 30(2); 31(3); 33(3); 40(2). MANGARATIBA: *RU-GIR 68*: 28(25); 29(20); 30(15); 31(7); 32(4); 33(6); 34(5); 35(3); 36(2); 37(9); 38(10); 39(3); 40(17); 41(1); 42(12); 43(3); 44(3); 45(5); 46(8). *RU-GIR 69*: 17 (1); 20 (53); 20(8); 23(33); 24(40); 25(6); 26 (10); 27 (7).

**Minas Gerais:** ESTRADA MG – 353 – MG *RU-GIR 67*: 28(5); 29(4); 30(2); 31(4); 32(3); 33(2); 34(1); 35(5); 36(2); 39(4); 40(3); 41(6); 42(4); 42(1); 43(1); 44(3); 45(14); 46(4).

Apêndice A. Continuação...

### *Thoropa taophora*

**São Paulo:** SANTO ANTONIO DO PINHAL: *CFBH/29577*: 42(1). UBATUBA: *CFBH 9016*: 34(1); 35(1); 36(5); 40(1). *CFBH 9037*: 31(1); 34(1); 36(1); 41(1). *CFBH 9041*: 33(1); 34(1); 37(1); 40(1); *ZUEC-AMP 18999*: 27(2); *ZUEC-AMP 19000*: 28(4); *ZUEC-AMP 19001*: 29(1); *ZUEC-AMP 19002*: 30(2); *ZUEC-AMP 19003*: 31(1); *ZUEC-AMP 19004*: 34(2); *ZUEC-AMP 19005*: 35(2); *ZUEC-AMP 19006*: 36(3); *ZUEC-AMP 19007*: 37(1); *ZUEC-AMP 19008*: 38(7); *ZUEC-AMP 19009*: 39(5); *ZUEC-AMP 19010*: 40(6); *ZUEC-AMP 19011*: 41(4); *ZUEC-AMP 19012*: 42(1).

**Apêndice B.** Tabela com Resumo dos trabalhos mais relevantes que trataram o desenvolvimento de anuros com tabelas de estágios pictóricas, relacionando número de estágios, período do desenvolvimento observado e modo reprodutivo, apresentando uma síntese da diversidade de modos reprodutivos/desenvolvimento nas diferentes famílias e regiões do planeta. Determinação dos modos reprodutivos seguiu Haddad e Prado (2005). Período do desenvolvimento observado: E = Embrionário; ET= Embrionário Tardio; ED= Embrionário Desenvolvimento-Direto; L= Larval Exotrófico; LI= Larval Inicial; LE= Larval Endotrófico.

<i>Família</i>	<i>Espécie</i>	<i>Número de Estágios</i>	<i>Período do desenvolvimento observado</i>	<i>Modo reprodutivo</i>	<i>Localidade</i>	<i>Autor da tabela</i>
Bufonidae	<i>Duttaphrynus melanostictus</i>	43	E/L	1	Insulásia, Maldivas, Bangladesh, China, Índia, Madagascar, Nepal e Paquistão.	Khan, 1965
	<i>Incilius valliceps</i>	46	E/L	1	Costa Rica, Guatemala, El Salvador e México	Limbaugh e Volpe, 1957
	<i>Rhinella arenarum</i>	25	E	1	Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai	delConte e Sirlin, 1952
	<i>Sclerophrys arabica</i>	46	E/L	1 e 2	Arábia Saudita, Omã e Iêmen	Baomar <i>et al.</i> , 2004
Dicroglossidae	<i>Hoplobatrachus tigerinus</i>	27	E/LI	1	Afganistão, Bangladesh, Butão, Índia, Mianmar, Nepal e Paquistão	Khan, 1969
Eleutherodactylidae	<i>Eleutherodactylus coqui</i>	15	ED	23	Porto Rico	Townsend e Stuart, 1985
Hemiphractidae	<i>Gastrotheca riobambae</i>	25	E	35	Andes no Equador central e norte	delPino e Escobar, 1981
Hylidae	<i>Dryophytes japonicus</i>	46	E/L	1	China, Japão, Coreia, Mongólia e Rússia	Iwasawa e Futagami, 1992
	<i>Pseudis platensis</i>	12	L	1	Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai	Fabrezi <i>et al.</i> , 2009
Leptodactylidae	<i>Physalaemus albonotatus</i>	46	E/L	28	Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai	Gómez <i>et al.</i> , 2016
Limnodynastidae	<i>Phyllorhina sphagnicolus</i>	37	E/L	7 e 21	Austrália	deBavay, 1993
Mantellidae	<i>Mantidactylus betsileanus</i>	46	E/L	1 e 2	Madagascar	Scheld <i>et al.</i> , 2013

Apêndice B. Continuação...

<i>Família</i>	<i>Espécie</i>	<i>Número de Estágios</i>	<i>Período do desenvolvimento observado</i>	<i>Modo reprodutivo</i>	<i>Localidade</i>	<i>Autor da tabela</i>
Microhylidae	<i>Dermatoneurus muelleri</i>	20	L	1	Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai.	Fabrezi <i>et al.</i> , 2012
	<i>Microhyla fissipes</i>	45	E/L	1	China, Tailândia, Indochina e Península malaia	Wang <i>et al.</i> , 2017
	<i>Microhyla ornata</i>	45	E/L	1	Paquistão, Índia, Nepal, Sri Lanka	Shimizu & Ota, 2003
Myobatrachidae	<i>Arenophryne rotunda</i>	15	ED	23	Austrália	Antis <i>et al.</i> , 2007
	<i>Crinia nimbus</i>	17	E/LE	21	Tasmânia, Austrália	Mitchell & Swain, 1996
	<i>Metacrinia nichollsi</i>	15	ED	23	Austrália	Anstis, 2008
	<i>Myobatrachus gouldii</i>	15	ED	23	Austrália	Anstis <i>et al.</i> , 2007
Odontophrynidae	<i>Odontophrynus cordobae</i>	46	E/L	2	Argentina	Grenat <i>et al.</i> , 2011
Pipidae	<i>Pipa arrabali</i>	11	ET/ED	16	Brasil, Guiana, Suriname e Venezuela	Araújo <i>et al.</i> , 2016
	<i>Xenopus laevis</i>	66	E/L	1	África do Sul, Angola e Malauí	Nieuwkoop e Faber, 1956
Rhacophoridae	<i>Polypedates teraiensis</i>	46	E/L	11	Bangladesh, Índia e Nepal	Chakravarty <i>et al.</i> , 2011
	<i>Pseudophilautus viridis</i>	14	ED	23	Sri Lanka	Bahir <i>et al.</i> , 2005
	<i>Theloderma corticale</i>	46	E/L	26	China, Hong Kong e Vietnam	Rauhaus <i>et al.</i> , 2012
Scaphiropodidae	<i>Spea intermontana</i>	30	ET/L	1	Canadá e EUA	Hall <i>et al.</i> , 1997
Ranidae	<i>Lithobates pipiens</i>	25	E	1	Canadá e EUA	Shumway, 1940
	<i>Lithobates pipiens</i>	25	L	1	Canadá e EUA	Taylor e Kollros, 1946
	<i>Lithobates sylvaticus</i>	23	E	1	Canadá e EUA	Pollister e Moore, 1937
	<i>Odorrana tormota</i>	32	E/L	2	China	Rong-Chuan <i>et al.</i> , 2010