OLÍVIA GABRIELA DOS SANTOS ARAÚJO

ANÁLISES DE SEQUÊNCIAS ONTOGENÉTICAS DO CRÂNIO IMATURO DE *PIPA ARRABALI*: IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS E ECOLÓGICAS

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia)

Orientador: Célio F. B. Haddad
Co-orientador: Hélio R. da Silva

Rio Claro
2010

597.8 Araújo, Olívia Gabriela dos Santos
A663a Análises de sequências ontogenéticas do crânio imaturo de Pipa arrabali: implicações filogenéticas e ecológicas / Olívia Gabriela dos Santos Araújo. - Rio Claro : [s.n.], 2010
96 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Célio F. B. Haddad
Co-Orientador: Hélio R. da Silva

1. Anuro. 2. Morfologia. 3. Desenvolvimento. 4. Heterocronia. 5. Pipidae. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

OLÍVIA GABRIELA DOS SANTOS ARAÚJO

ANÁLISES DE SEQUÊNCIAS ONTOGENÉTICAS DO CRÂNIO IMATURO DE *PIPA ARRABALI*: IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS E ECOLÓGICAS

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia)

Comissão Examinadora

Dr. Célio F. B. Haddad (orientador)

Dr. Rafael O. de Sá

Dr. Antonio Sebben

Rio Claro, 16 de Julho de 2010

À minha filha, Indra Rani
Ao meu pai, Edmilson (*in memorian*)

AGRADECIMENTOS

À FAPESP (procs. 2006/60187-3) pela bolsa consedida para realização da pesquisa e à FAPESP (procs. 01/13341-3; 08/50928-1) e CNPq pelo suporte dado ao Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Unesp, Rio Claro, SP.

Ao Guarino Colli, curador da Coleção Herpetológica da UnB – CHUNB, por disponibilizar os espécimes utilizados nas analises realizadas.

Ao Célio pela amizade, compreensão e amparo dado nesses quase nove anos de convivência e trabalhos conjuntos. Pela disposição a ajudar, dar idéias, mostrar caminhos e me ensinar a buscar o conhecimento científico. Pelos conselhos sempre mais sensatos e necessários.

Ao Hélio pela amizade, dedicação e incentivo. Por me instigar e inspirar cada vez mais, nutrindo o amor em comum pela morfologia. Por despertar em mim ainda mais o olhar crítico, sob outros ângulos, dos mais diversos aspectos da vida, muito além da ciência praticada na academia.

À Analia que me acolheu de braços e portas abertas ensinando-me muito e com tanto amor e dedicação. Agradeço também aos assaditos do Tito, aos mates sempre bem vindos da Moni, e à linda princesa Lucia.

Ao Julian pela amizade e conselhos nos mais diversos assuntos. Aos seus estímulos e provocações que me fizeram buscar mais e mais na ciência e na vida.

Aos amigos e colegas herpetólogos em geral que ajudaram de alguma forma em minha jornada: Vã, Tulis, Daniel, Beta, Mi, Tetê, Katy, Jõao Alexandrino, Bictor, Carlinha, Bianca, Magno, Luis, Francisco, Clarissa, Nadia, André, Taís, Fernanda, Leo, Azeitona, Bernie, Quase, Bis, Pedó, Jesus, Eli, Clara, Pedrita, Cynthia, Cinthia, Jú, Kiwi, Fê, Nerso, Raquel, Andrezinho, Piktor, Ricardinho, Gabriela, Mônica, Décio, Carol, Thiago, etc.

Ao Jaime pela paciência e dedicação ao fazer a arte final dos desenhos da dissertação.

À professora Mariza pelo carinho e abnegação com que me ajudou na minha caminhada para entrar no mestrado.

À Natasha pela amizade e por me acolher tão docemente nas minhas estadas em Seropédica.

Aos amigos Leslie, Milena, Matheus, Max, Vagninho, Érica, Poly, Ganso, Paul, Leo, Tony e Xico, cada um ao seu modo, me ajudando, amparando e incentivando a perseverar nos meus objetivos acadêmicos e de vida.

Ao Leo por seguir ao meu lado nesses últimos momentos tortuosos do fim da dissertação, me ajudando e acompanhando.

À minha eterna irmãzinha Tathy Tiemi, que sempre está presente me incentivando e me acompanhando, mesmo que distante espacialmente, mas muito próxima na mente e coração.

Ao Théo, o pior, pelo apoio nos diferentes momentos da minha vida, e agora também à Isa, por estarem cada vez mais presentes e próximos.

À minha mãe pelo carinho, preocupação, dedicação e incentivo.

Ao meu pai (*in memorian*) por me confortar, tanto nos bons momentos como também nos momentos de dúvida e inseguranças, me dando vontade de continuar lutando e insistido.

Principalmente agradeço à minha filha, minha princesa encantada Indra Rani, que esteve ao meu lado em todos os momentos, me apoiando, me incentivando e até me cobrando carinhosamente. Acompanhando pacientemente e ativamente cada etapa do processo. Mas, acima de tudo, me mostrando que existe vida além da dissertação e que esta vida ao lado dela é muito doce, prazerosa e recompensadora.

RESUMO

O estudo comparativo da ontogenia fornece dados que podem servir tanto para elucidar alguns dos mecanismos de evolução, como para realizar reconstruções filogenética, principalmente porque permite a observação da diferenciação morfológica e temporal durante o desenvolvimento. O estudo das modificações do processo de ontogenia também fornece dados relativos aos processos de especiação. Neste sentido, os anfíbios podem ser considerados os melhores modelos para o estudo de ontogenia. Como eles têm embriões geralmente de vida livre, a aquisição da série de desenvolvimento necessário é relativamente fácil, quando comparado com qualquer outro animal vertebrado. Entre os anuros, por causa da diversidade de modos reprodutivos (que inclui desenvolvimento direto), os pipídeos oferecem uma rara oportunidade de investigar como o cuidado parental pode ter influenciado o desenvolvimento geral e, em particular, as rotas de desenvolvimento do esqueleto. Além disso, a família Pipidae também é um ramo que se diferenciou relativamente cedo na árvore de vida dos anfíbios anuros. Esta família apresenta uma combinação única de características plesiomórficas e exclusivamente derivadas, algumas das quais parecem representar adaptações a um estilo de vida aquático. O presente estudo descreve o desenvolvimento do crânio de *Pipa arrabali* e compara os dados disponíveis para outras espécies do grupo, incluindo outros Pipidae e Xenoanura. Para as análises morfológicas, foram utilizados 51 embriões em diferentes estágios de desenvolvimento. Para observar as estruturas esqueléticas os espécimes foram diafanizados e corados com uma técnica de dupla coloração para diferenciação de cartilagem e osso. O condrocrânio desta espécie é caracterizado pela redução ou ausência de várias estruturas, com uma concentração destas modificações nas regiões etmoidal e anterior. Quando comparado com outras espécies, parece óbvio que heterocronia é um mecanismo abrangente para a maioria das modificações ontogenéticas observadas.

Palavras-chave: Ontogenia; condrocrânio; heterocronia do desenvolvimento; morfologia; *Pipa arrabali*; Pipidae; Anura.

ABSTRACT

The study of comparative ontogeny provides data that can serve both, to elucidate some of the mechanisms of evolution and phylogenetic reconstruction, mainly because it allows for the observation of morphological and temporal differentiation during development. The study of modifications of ontogenic process also permits that data relating to the process of speciation be observed. In this regard, frogs may be considered the best models for the study of ontogeny. As they generally have free living embryos, the acquisition of the necessary developmental series is relatively easy, when compared with many other vertebrates. Amongst frogs, because of the diversity of reproductive modes (which includes direct developers), pipids offer a rare opportunity to investigate how parental care may have influenced development in general and skeletal developmental pathways in particular. Besides, the family Pipidae is also a relatively early offshoot of the anuran tree of life, presenting a unique combination of plesiomorfic characteristics and exclusive derived characteristics, some of which seems to represent adaptations to an aquatic lifestyle. Here in, I describe the development of the cranium of *Pipa arrabali* and compare the data available to other species in the group, including other Pipidae and Xenoanura. For the morphological analyses, I used 51 embryos in different developmental stages. To observe the skeletal structures the specimens were cleared and double stained for cartilage and bone differentiation. The chondrocranium of this species is characterized by several reductions or absence of structures, with a concentration of these modifications in the ethmoidal and anterior regions. When compared to other species, it seems obvious that heterocrony is a pervasive mechanism for the ontogenetic modifications observed.

Key-words: Ontogeny; chondrocranium; heterocrony of development; morphology; *Pipa arrabali*; Pipidae; Anura.

SUMÁRIO

Página

1. Introdução 10

2. Métodos..... 15

3. Resultados 18

3.1. Determinação dos estágios de desenvolvimento..... 18

3.2. Descrição do condrocrânio dos espécimes 35000 e 35008 (A, B, e C).... 19

3.3. Descrição do aparelho hiobranquial dos espécimes 35000 e 35008 (A, B e C)..... 24

3.4. Desenvolvimento do aparelho plectoral 25

3.5. Desenvolvimento das cartilagens nasais..... 28

3.6. Desenvolvimento da mandíbula..... 35

3.7. Ontogenia do aparelho hiobranquial..... 38

3.8. Ontogenia dos ossos cranianos..... 44

3.8.1. Sequência de aparecimento dos ossos 44

3.8.2. Sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos..... 44

3.8.2.1. Ossos dérmicos..... 44

3.8.2.2. Ossos endocondrais..... 50

3.9. Visão geral da ontogenia condrocraniana de *Pipa arrabali*..... 51

4. Discussão 53

4.1. Determinação dos estágios de desenvolvimentos..... 53

4.2. Descrição condrocrânio dos espécimes 35000 e 35008 (A, B e C)..... 54

4.3. Descrição do aparelho hiobranquial dos espécimes 35000 e 35008 (A, B e C)..... 58

4.4. Desenvolvimento do aparelho plectoral..... 60

4.5. Desenvolvimento das cartilagens nasais..... 60

4.6. Desenvolvimento da mandíbula..... 65

4.7. Ontogenia do aparelho hiobranquial..... 65

4.8. Ontogenia dos ossos cranianos..... 68

4.8.1. Sequência de aparecimento dos ossos 68

4.8.2. Sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos..... 73

4.9. Visão geral da ontogenia condrocraniana de *Pipa arrabali*..... 75

5. Considerações finais..... 78

6. Referências bibliográficas..... 81

Anexo I – Tabela de pesos e medidas dos embriões..... 87

Anexo II – Pranchas..... 90

1. Introdução

O estudo comparado da ontogenia fornece dados básicos que permitem compreender mecanismos evolutivos ligados a mudanças nas estruturas morfológicas dos organismos, além de servir de base para a descoberta de padrões de distribuição de caracteres, aumentando sua significância para estudos filogenéticos. Estudos desta natureza permitem atribuir uma importante dimensão temporal às diferenças morfológicas observadas durante o desenvolvimento dos organismos (ALBERTCH, 1985; KLINGENBERG, 1998; WAGNER et al., 2000). O estudo das modificações em sequências de desenvolvimento pode ainda fornecer dados para se entender alguns dos mecanismos envolvidos no processo de especiação (ALBERCH, 1985; WEBSTER; ZELDITCH, 2005). O processo de evolução morfológica associado a alterações no tempo e na taxa de desenvolvimento é denominado de heterocronia (ALBERCH, 1985). Os principais eventos atribuídos a fenômenos heterocrônicos podem ser classificados em dois grupos: os que geram pedomorfose, como a progênese e a neotenia, e os que geram peramorfose, como a hipermorfose e a aceleração (ver definições dos termos na Tabela 1.1.).

Tabela 1.1. Definições dos termos relacionados às heterocronias do desenvolvimento (*sensu* ALBERCH et al.,1979)

Termo	Definição
Aceleração	Aumento da taxa de crescimento em relação ao ancestral
Hipermorfose	Desenvolvendo continuando por mais tempo que o ancestral
Neotenia	Diminuição da taxa de crescimento em relação ao ancestral
Pedomorfose	Retenção de caracteres juvenis do ancestral na fase adulta do descendente
Peramorfose	Ocorrência da morfologia adulta do ancestral na fase juvenil do descendente. Descendente continua se desenvolvendo além dessa fase

“Post-displacement”	Atraso do início do desenvolvimento em relação ao ancestral
“Pre-displacement”	Descendente começa a se desenvolver relativamente antes que o ancestral
Progênese	Truncamento antecipado do desenvolvimento em relação ao ancestral

Para o estudo das modificações do processo de ontogenia os anfíbios podem ser considerados os melhores modelos. Como eles têm em geral embriões de vida livre, a aquisição da série de desenvolvimento necessária é relativamente fácil, quando comparada com qualquer outro animal vertebrado. Entre os anuros, os pipídeos oferecem uma rara oportunidade de investigar como o cuidado parental pode ter influenciado o desenvolvimento ontogenético das espécies, por causa da diversidade de modos reprodutivos que inclui desenvolvimento direto (CANATELLA; TRUEB, 1988; TINSLEY; KOBEL, 1996). A família Pipidae aparece entre os primeiros ramos a se diferenciar próximo à base da filogenia dos anfíbios anuros (FROST et al., 2006), com fósseis que datam do Cretácio inferior, cerca de 120 milhões de anos atrás (BÁEZ, 1996; BÁEZ et al., 2008). As espécies deste grupo são completamente aquáticas e raramente se aventuram fora da água. Têm diversas adaptações à vida aquática, inclusive a perda da língua e a presença de um sistema de linhas laterais mantido nos adultos (CANATELLA; TRUEB, 1988; TINSLEY; KOBEL, 1996). Esta família é encontrada atualmente na África, ao Sul do Saara, e na região Neotropical, nas Américas do Sul e Central (CANATELLA; TRUEB, 1988). Os pipídeos africanos são representados pelos gêneros *Hymenochirus*, *Pseudhymenochirus*, *Silurana* e *Xenopus* e os Neotropicais pelo gênero *Pipa* (FROST, 2010). A família Pipidae é grupo irmão da família Rhinophrynidae e juntas compõem os Xenoanura (Figura 1.1.), grupo que primeiro se diferenciou nos Lalagobatrachia (FROST et al., 2006).

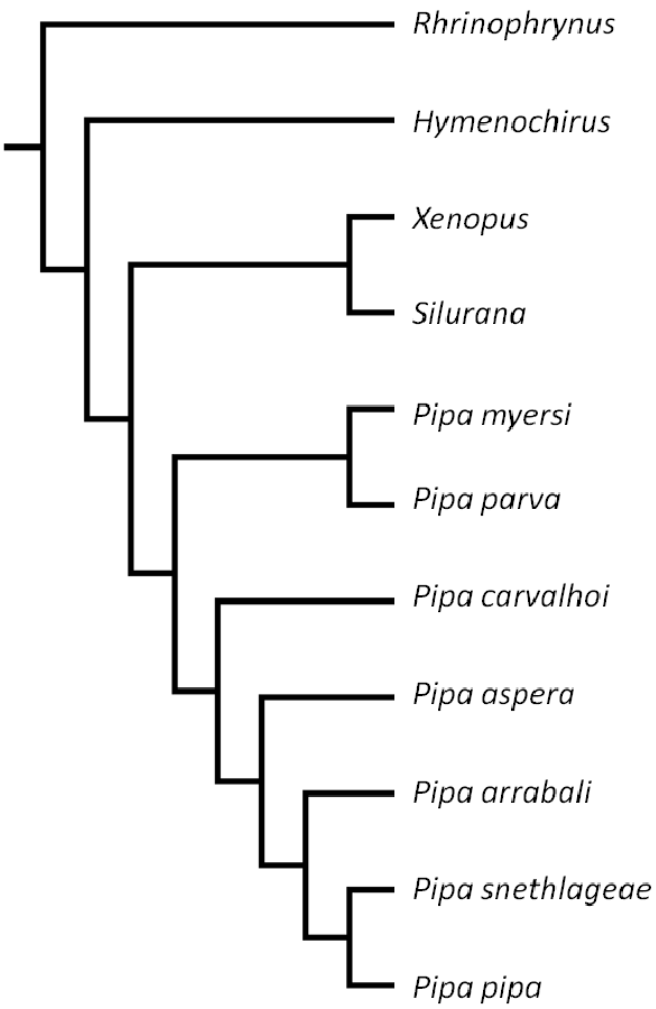


Figura 1.1. Hipótese filogenética dos xenoanuros, redesenhada seguindo Frost et al. (2006) e Trueb e Massemin (2000).

O gênero *Pipa* possui sete espécies descritas, das quais *Pipa arrabali* (Figura 1.2.), *P. aspera*, *P. pipa* e *P. snethlageae* apresentam desenvolvimento direto no dorso das fêmeas. *P. carvalhoi* e *P. parva* apresentam desenvolvimento indireto, com incubação de girinos no dorso das fêmeas e a posterior liberação deles em corpos d'água. *P. myersi* também apresenta girinos livre-natantes, porém nesta espécie ainda é desconhecido se existe um período de incubação dos embriões no dorso da mãe (RAB; RAB,1960; WEYGOLDT, 1976;TRUEB; CANNATELLA, 1986; TRUEB; MASSEMIN, 2000).



Figura 1.2. Adulto de *Pipa arrabali*, Paranaíta, MT.

Nos xenoanuros algumas estruturas condrocranianas são muito peculiares, como as cápsulas óticas, as cartilagens nasais e as maxilas (PATERSON, 1960; ROČEK; VESELÝ, 1989; YEH, 2002). O estudo do desenvolvimento destas estruturas agrega dados fundamentais para a compreensão do grupo e dos demais anuros como um todo.

Os crânios dos adultos de todas as espécies do gênero *Pipa* já foram descritos (PATERSON, 1955; TRUEB; CANNATELLA, 1986; TRUEB; MASSEMIN, 2000), bem como o condrocrânio das larvas de *P. carvalhoi* (SOKOL, 1977) e *P. pipa* (PARKER, 1876). Além disto, já houve outros estudos de regiões específicas das larvas do gênero como a região nasal de *Pipa pipa* (e.g., HIGGINS 1920; ROČEK; VESELÝ, 1989) e a porção interna das cápsulas óticas de *P. carvalhoi* e *P. pipa* (PATERSON, 1960). Estudos descrevendo partes da ontogenia craniana das larvas também se restringiram às espécies *P. carvalhoi* (ARAÚJO, 2006), *P. myersi* (YEH, 2002) e *P. pipa* (PARKER, 1876; TRUEB ET AL., 2000), sendo que em *P. myersi*, apenas a ordem de aparecimento dos ossos cranianos é descrita.

Sendo assim, será descrita a morfologia e as etapas do desenvolvimento condrocrânio de *Pipa arrabali,* dando ênfase ao desenvolvimento das estruturas peculiares. A partir destas descrições serão feitas análises comparativas das demais espécies do gênero, da família e do grupo Xenoanura. Com base na ontogenia comparada dos táxons serão identificadas as heterocronias e demais diferenças no

desenvolvimento do condrocrânio de *Pipa arrabali,* traçando padrões evolutivos e contextualizando filogeneticamente diferentes estados dos caracteres encontrados. Além de correlacionar, sempre que possível, os estados dos caracteres com a ecologia das espécies analisadas.

2. Métodos

Foram utilizados embriões de *Pipa arrabali* em diferentes estágios de desenvolvimento, coletados do dorso de 17 fêmeas, mais seis jovens recém eclodidos, todos obtidos de exemplares da Coleção Herpetológica da UnB – CHUNB, Departamento de Zoologia da Universidade de Brasília, totalizando 57 indivíduos analisados (Anexo I - Tabela 1). As fêmeas com embriões foram dissecadas e, de cada uma delas, foram retirados três embriões (Figura 2.1.), sendo um da porção anterior (chamado de A), um da porção medial (chamado de B) e o outro da porção posterior (chamado de C). Portanto, quando for citado, por exemplo, o espécime 35027-B significa que o mesmo foi retirado da porção medial do dorso da fêmea CHUNB 35027.



Figura 2.1. Fêmea de *Pipa arrabali* CHUNB 35056, da Serra do Cachimbo, município de Novo Progresso, PA, com a região dorsal aberta expondo os alvéolos com os embriões. As letras A, B e C referem-se à padronização de posicionamento dos embriões retirados para as análises (veja o texto para detalhes).

O peso, o comprimento rostro-cloacal (CRC), a largura do condrocrânio na altura das cápsulas óticas e o comprimento da cauda foram mensurados. Para obter o peso foi utilizada uma balança analítica de precisão e por questões de padronização os embriões foram imersos previamente em álcool 70% por algumas horas e, no momento da pesagem, foram rapidamente encostados em papel absorvente e em seguida colocados na balança.

Posteriormente, os espécimes foram diafanizados, mantendo-se a temperatura constante de 25ºC, segundo a técnica Taylor e Van Dyke (1985) modificada, que consiste em:

- Remoção da pele e evisceração.
- Desidratação: Tratamento com uma série alcoólica (etanol) crescente (70%, 90% e 95%) permanecendo em torno de 24 horas em cada solução.
- Coloração das Cartilagens: Imersão dos espécimes em solução de 40% de ácido acético glacial em álcool puro (60%) + 0,3-0,4 g/l de azul de alcian, por 3 a 5 horas.
- Neutralização: Imersão dos espécimes em solução saturada de bórax [(tetra) borato de sódio] por dois dias no mínimo, trocando a solução a cada dia. Outra possibilidade seria de imersão em solução de KOH (0,5-1%) pelo mesmo período.
- Diafanização: Solução composta de 30% de solução aquosa saturada de bórax + 70% de água destilada + tripsina ($\pm$ 1 g/l), até que os músculos se tornem transparentes.
- Coloração dos ossos: Imersão dos espécimes em solução composta por uma pitada de vermelho de alizarina S, em solução aquosa de KOH (0,5-1%) até que os ossos assumam a cor vermelho escuro.
- Estocagem e preservação: Série de glicerina 40, 70 e 95%, em solução de KOH (0,5-1%). Permanecendo pelo menos um dia em cada série. Adicionando-se cristais de timol na última solução, na qual o exemplar será conservado.

Após a diafanização os espécimes foram analisados com auxílio de estereomicroscópio equipado com câmera clara e fotográfica. Quando necessário, alguns exemplares foram desarticulados (para facilitar observação em vários ângulos), fotografados e desenhados.

O estabelecimento de uma ordem crescente de desenvolvimento dos indivíduos foi feito a partir da análise conjunta das medidas realizadas, do peso e de

observações do desenvolvimento condrocraniano após a diafanização. Entretanto, não foi possível se estabelecer uma tabela contínua de desenvolvimento com base nos exemplares da amostra. Portanto, sempre que for importante será citado o número do espécime para que a tabela com pesos e medidas seja consultada (Tabela 1).

Para fins de descrição detalhada de todas as estruturas foram escolhidos os espécimes 35008 e 35000 (A, B e C) como sendo os espécimes com condrocrânio larval em estágio mais avançado de desenvolvimento antes do aparecimento das estruturas típicas de adulto (e.g. cartilagens nasais modificadas).

A nomenclatura utilizada segue Trueb (1973) para os ossos, Sokol (1975, 1977) para as cartilagens do condrocrânio e aparelho hiobranquial larval, Ridewood (1898) para o aparelho hiobranquial adulto, Roček e Veselý (1989) para as cartilagens nasais e Trueb et al. (2000) para o aparelho plectoral. Em casos específicos onde estes autores não foram seguidos, a primeira vez que o termo for utilizado estará seguido do autor entre parênteses. Alguns termos anglicizados por alguns autores (e.g. TRUEB 1973) foram aportuguesados ou, quando possível, traduzidos para o português (e.g. alary process of premaxilla = processo alar da pré-maxila).

Neste trabalho utilizamos o termo “centro de ossificação” para as menores áreas observadas de ossificação de cada osso, evidenciadas através da técnica do tingimento por alirarina, que revela acumulo de cálcio e não necessariamente o primeiro evento no desenvolvimento de cada osso.

3. Resultados

3.1. Determinação dos estágios de desenvolvimento

Os embriões retirados do dorso das fêmeas de *Pipa arrabali* estavam contorcidos pelo processo de fixação, o que dificultou a aferição das medidas de tamanho. As medidas e peso de cada embrião e jovem recém eclodido são apresentados na Tabela 1.

Não foram observadas diferenças significativas de desenvolvimento entre os embriões retirados das três áreas distintas do dorso de cada fêmea.

De uma forma geral os embriões e jovens recém eclodidos puderam ser organizados em forma crescente de desenvolvimento da seguinte forma:

35027 (A,B e C) < 35055 (A,B e C) < 35000 (A,B e C) = 35008 (A,B e C) < 35045 (A,B e C)< 35019 (A,B e C) < 35030 (A,B e C) < 35056 (A,B e C) < 35051 (A,B e C) < 35015 (A,B e C) < 35014 (A,B e C) < 35033 (A,B e C) < 35013 (A,B e C) < 35018 (A,B e C) < 35053 (A,B e C) < 35059 (A,B e C) < 35050 (A,B e C) < 35001 (A,B e C) = 14942 (A,B e C).

3.2. Descrição do condrocrânio dos espécimes 35000 e 35008 (A, B, e C) – Figuras 3.2.1., 3.2.2. e 3.2.3.

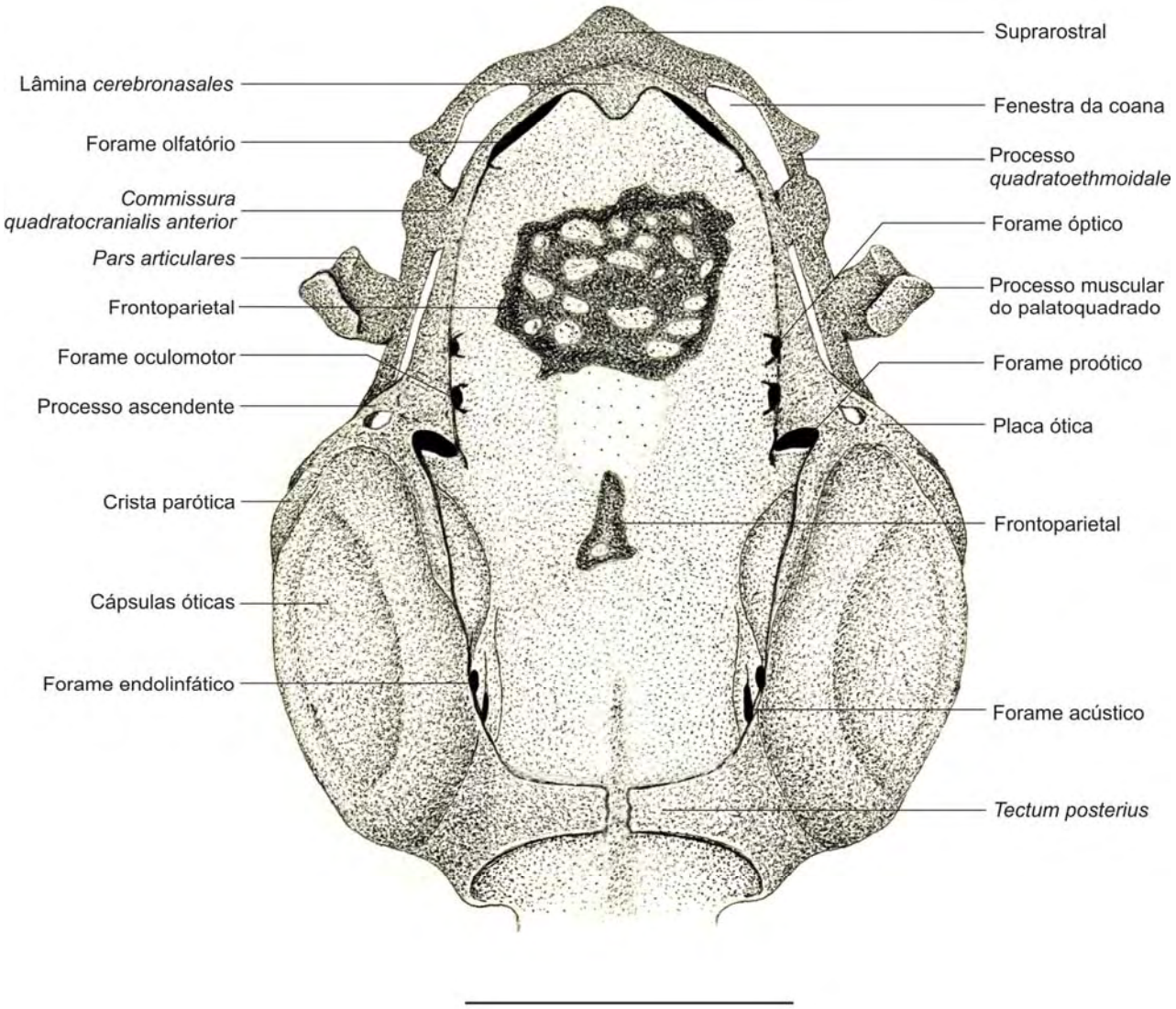


Figura 3.2.1. Condrocrânio diafanizado do embrião 35008 – A (CRC: 5,79 mm) da espécie *Pipa arrabali*, em vista dorsal. A barra representa 1mm.

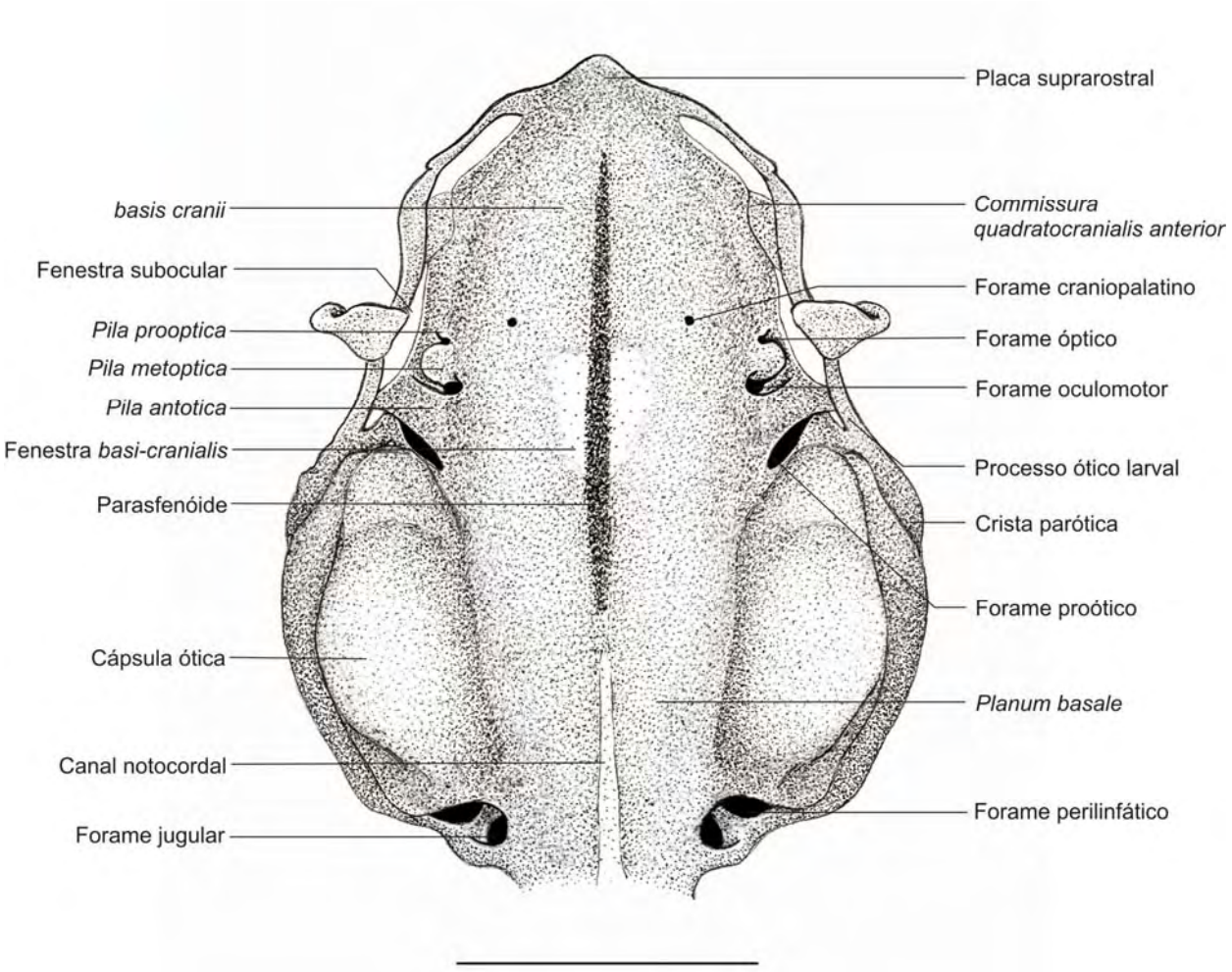


Figura 3.2.2. Condrocrânio diafanizado do embrião 35008 – A (5,79 mm) da espécie *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra representa 1mm.

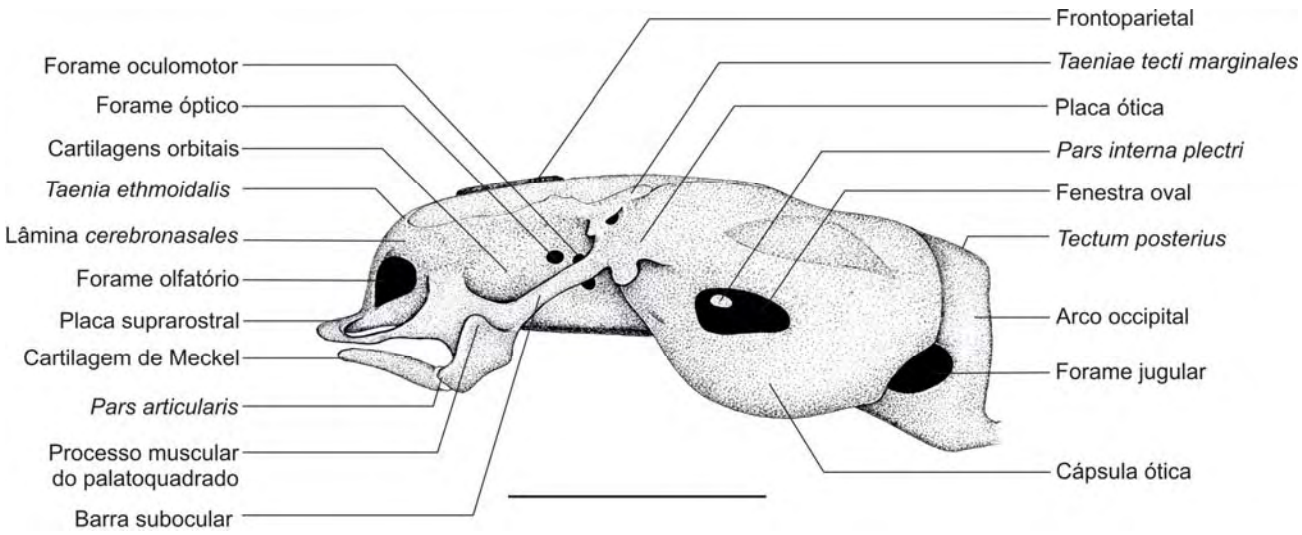


Figura 3.2.3. Condrocrânio diafanizado do embrião 35008 – A (CRC: 5,79 mm) da espécie *Pipa arrabali*, em vista lateral esquerda. A barra representa 1mm.

O condrocrânio é curto e largo, com uma cúpula dorsal membranosa e transparente que recobre a porção dorso-medial da fontanela frontoparietal. A porção anterior é curta, com a região etmoidal e suprarostral compreendendo apenas cerca de 5% do comprimento total do condrocrânio. Na porção posterior, as cápsulas óticas se apresentam volumosas em relação ao restante do condrocrânio, representando cerca de 50% do seu comprimento total. O palatoquadrado é reduzido em todas as suas proporções, representando cerca de 30% do comprimento total do condrocrânio.

A placa suprarostral (*sensu* DE SÁ E SWART 1999) é extremamente reduzida e apresenta uma pequena protuberância antero-medial, formando um pequeno bico. O processo *quadratoethmoidale* é fusionado à porção distal da placa suprarostral. O espaço entre a fusão e a base dos forames olfatórios são as fenestras para a coana. Na região desta conexão existe uma pequena aba lateral de cartilagem.

O piso do *cavum cranii* é formado anteriormente pela *basis cranii* e posteriormente pelo *planum basale*. Na região central da *basis cranii* a fenestra *basi-cranialis* (*sensu* GAUPP 1893) está quase completamente obliterada, restando apenas um pequeno orifício central. Anteriormente à fenestra *basi-cranialis* observamos os forames craniopalatinos, que são duas perfurações pequenas na região medial da *basis cranii* localizadas lado a lado, na altura da *pila prooptica*. Postero-medialmente no *planum basale* o canal notocordal avança entre as cápsulas óticas até aproximadamente a metade do comprimento das mesmas. Na porção medial do *planum basale* os forames caróticos primários não estão presentes.

Anteriormente, *o cavum cranii* é delimitado pela lâmina *cerebronasales* (*sensu* ROČEK 2003) e posteriormente pelo forame magno. Lateralmente, é delimitado pelas cartilagens orbitais onde as *pilas prooptica, metoptica e antotica* delimitam as bordas laterais dos forames óptico e oculomotor. A porção postero-lateral do *cavum cranii* é delimitada dorsalmente pela *taeniae tecti marginales* e abaixo dessa pela cápsula ótica.

A lâmina *cerebronasales* é alta e faz um ângulo de cerca de 90^{o} com a placa suprarostral. Esta lâmina é perfurada pelos forames olfatórios, que são perfurações largas desta região do crânio, ocupando a maior parte da lâmina. A *pila ethmoidalis* (*sensu* BEER, 1937) separa os forames medialmente e a *taenia ethmoidalis* (*sensu* HAAS,1996) os margeia dorsalmente. Na porção dorso-medial da *taenia ethmoidalis*

existe uma projeção cartilaginosa triangular com a ponta mais aguda direcionada dorsalmente.

Na porção lateral do crânio, anterior às cápsulas óticas, o forame óptico é delimitado antero-lateralmente pela *pila prooptica* e postero-lateralmente pela *pila metoptica*. O forame oculomotor é delimitado antero-lateralmente pela *pila metoptica* e postero-lateralmente pela *pila antotica*. O forame proótico é uma fissura entre a *pila antotica e a* cápsula óptica sendo que dorsalmente é delimitado pela *taeniae tecti marginales*. Os forames óptico e oculomotor são delimitados dorsalmente pela cartilagem orbital. Todos estes forames são delimitados ventralmente pela *trabecula cranii*. Dorsalmente aos forames óptico e oculomotor, perfurando a cartilagem orbital, o forame troclear não foi observado.

A fenestra frontoparietal é a maior abertura dorsal do condrocrânio, representando 85% do comprimento total desse. É delimitada anteriormente pela *taenia ethmoidalis*, posteriormente pelo *tectum posterius*, lateralmente pelas cartilagens orbitais e pelas *taeniae tecti marginales* e cápsulas óticas. Estas margens se apresentam aproximadamente todas na mesma altura, sendo levemente mais baixa na região anterior. Recobrindo a fontanela frontoparietal existe uma fina membrana não cartilaginosa com um formato cupular alto, conferindo ao condrocrânio um aspecto abobadado dorsalmente.

O arco occipital é confluente antero-dorsalmente com o teto sinótico, lateralmente às cápsulas óticas e ventralmente é fusionado à placa basal. A sua margem posterior delimita o teto do forame magno. O teto sinótico ainda não está completamente formado, restando um espaço medial não condrificado.

A separação entre a placa basal e as primeiras vértebras é incompleta, as cartilagens paracordais ainda estão em processo de divisão, sendo que a primeira vértebra não está totalmente separada do arco occipital.

Três forames perfuram a parede da cápsula ótica voltada para o *cavum cranii*: o endolinfático, o acústico e o perilinfático (ver também Anexo II - Figura 2). Medialmente encontramos o forame endolifático e o forame acústico, sendo o acústico maior e posicionado ventralmente em relação ao endolinfático; e na região posterior da cápsula ótica encontramos o forame perilinfático superior que desemboca na fossa condilóidea.

Os forames jugulares localizam-se entre a região postero-medial das cápsulas óticas e o arco occipital desembocando também na fossa condilóidea.

Na porção latero-medial da cápsula ótica a fenestra oval está visível e já apresenta o princípio da condrificação da *pars interna plectri*, como sendo um pequeno disco cartilaginoso na porção antero-dorsal da fenestra oval.

A crista parótica se apresenta como uma pequena expansão anterolateral da cápsula ótica. Anteriormente o processo ótico larval liga a crista parótica ao palatoquadrado e posteriormente o processo muscular da cápsula ótica não está presente.

O palatoquadrado é curto e delgado, localizando-se na porção lateral médio anterior do crânio e ligado a este em três pontos: na porção anterior do condrocrânio através da *commissura quadratocranialis anterior* e na porção posterior do condrocrânio através do processo ascendente e processo ótico larval.

A *commissura quadratocranialis anterior* é estreita e delgada, se ligando ventro-lateralmente à porção mais anterior da *basis cranii*, próximo à junção desta com a lâmina *cerebronasales*. A *commissura quadratocranialis anterior* apresenta anteriormente o processo *quadratoethmoidale* que forma a parede lateral da coana e é confluente com o suprarostral, tal como mencionado anteriormente.

O *ligamentum tectum*, que liga o processo muscular à *commissura quadratocranialis anterior*, não pode ser identificado como uma cartilagem nem como um tendão, porém nesta região percebe-se a existência de um tecido não pigmentado, possivelmente um tecido conjuntivo.

A fenestra subocular é muito estreita e a barra subocular é contínua e delgada. Em relação ao eixo central do condrocrânio a barra subocular forma um ângulo agudo. A projeção lateral de cartilagem que suporta o processo muscular e o *pars articularis* sai da região medial da barra subocular. Ventralmente esta projeção de cartilagem também apresenta um pequeno côndilo para a articulação hioquadrada. O processo muscular do palatoquadrado é robusto e compacto.

Uma pequena placa ótica está localizada entre os processos ascendente, ótico larval e a crista parótica. Não existe processo ventro-lateral do palatoquadrado.

A fixação do processo ascendente ao neurocrânio (sistema suspensório) é modificada de um tipo “alta” (*sensu* SOKOL, 1975). O processo ascendente do palatoquadrado se fixa à borda superior da *pila antotica* na borda da fenestra frontoparietal (ver também Anexo II – Figura 1). Outro ponto de fixação onde a sustentação é mais robusta ocorre junto ao processo ótico larval.

As cartilagens de Meckel são arqueadas, conferindo à mandíbula um formato de U parecido com a do adulto. Anteriormente são mais delgadas e progressivamente mais espessas posteriormente. A porção posterior se conecta a *pars articularis* do palatoquadrado. Observa-se uma cartilagem infrarostral única e muito reduzida entre as cartilagens de Meckel.

3.3. Descrição do aparelho hiobranquial dos espécimes 35000 e 35008

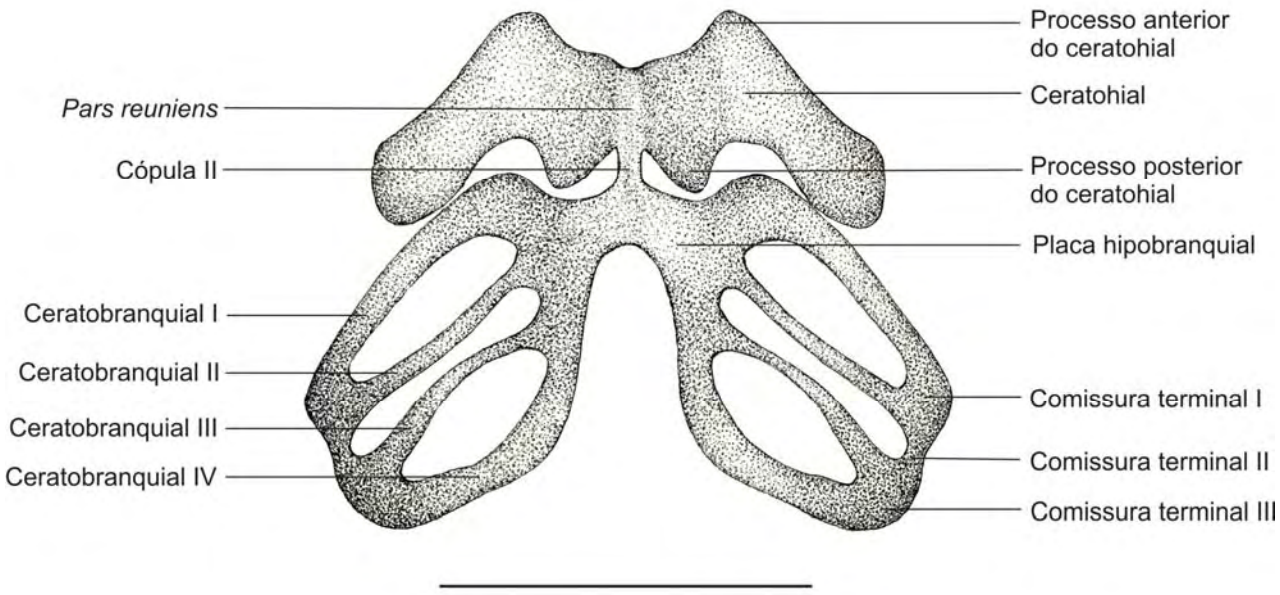


Figura 3.3.1. Aparelho hiobranquial do embrião 35000 – A (CRC: 5,30 mm) da espécie *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra representa 1mm.

O aparelho hiobranquial (Figura 3.3.1.) é delgado e estreito dorso-ventralmente, representando cerca de 50% do comprimento total do condrocrânio.

O ceratohial é grande, em formato retangular, com as pontas arredondadas e com uma expansão na região postero-proximal.

O processo anterior do ceratohial é alargo e arredondado, formando uma aba que se estende lateralmente. Pode ser que o processo antero-lateral do ceratrohial conflua com a aba do processo anterior do ceratohial, sendo indistinguível deste, ou não exista o processo antero-lateral do ceratohial.

O processo posterior do ceratohial é uma expansão acentuada na região postero-proximal equivalendo a cerca de 30% da extensão do ceratohial.

Os ceratohiais são unidos medialmente pelo *pars reuniens* que se apresenta como uma dobra em formato de calha, com a concavidade voltada para a porção dorsal do espécime. Não existe uma marca de sutura ou articulação na região da

união entre os ceratohiais e o *pars reuniens*, ou seja, esses formam uma cartilagem contínua. Posteriormente aos *pars reuniens* encontra-se a cópula II, delgada e alongada que se liga às duas placas hipobranquiais. Cópula I e processo urobranquial não estão presentes.

Cada placa hipobranquial é formada a partir da fusão antero-medial de quatro ceratobranquiais. Os ceratobranquiais são delgados sem espículas nem raios cartilaginosos. As comissuras terminais I, II e III unem posteriormente os ceratobranquiais I ao II, II ao III e III ao IV, respectivamente.

A comissura terminal III é muito curta, sendo que os ceratobranquiais III e IV quase se encostam. Desta região parte a *commissurae craniobranchialis* II que tem o formato de Y com a bifurcação orientada dorsalmente. A *commissurae craniobranchialis* I parte da porção terminal do ceratobranquial II, apresenta o formato de U com as pontas orientadas dorsalmente (Figuras 3.3.2. e 3.7.2.)

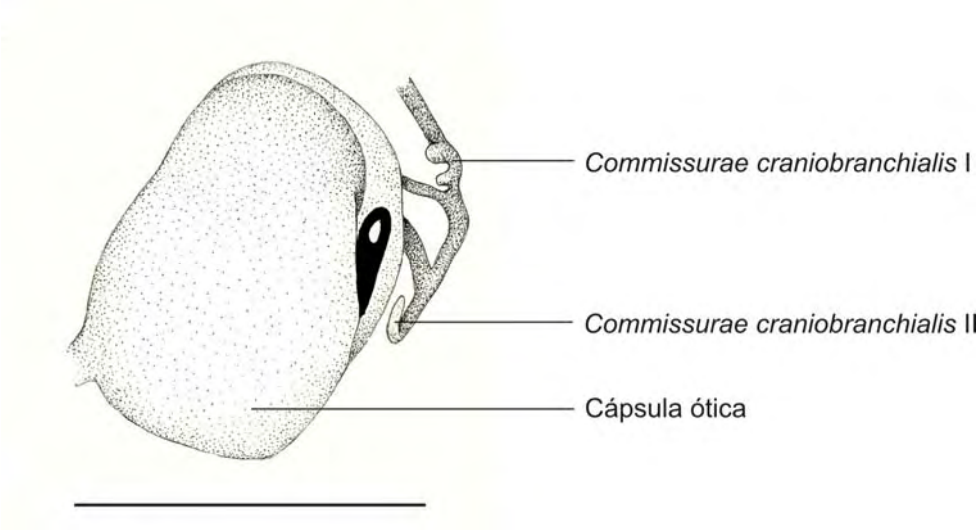


Figura 3.3.2. Detalhe da região da cápsula ótica direita em vista dorsal-lateral do embrião 35000 – A (CRC: 5,30 mm) de *Pipa arrabali*. A barra representa 1mm.

3.4. Desenvolvimento do aparelho plectoral

A fenestra oval já está presente desde os espécimes mais jovens (CRC: 3,21 mm) (35027- Figura 3.4.1. A), sendo que, nos espécimes 35055 – A, B e C (Figura 3.4.1. B) se apresenta proporcionalmente maior.

Os espécimes 35000 e 35008 – A, B e C (Figura 3.4.1. C) apresentam o princípio da condrificação da *pars interna plectri*, como sendo um pequeno disco cartilaginoso na porção antero-dorsal da fenestra oval.

Nos espécimes 35045 – A, B e C (Figura 3.4.1. D) a *pars interna plectri* apresenta uma pequena expansão lateral, representando o inicio da formação da *pars media plectri* (columela).

Nos espécimes 35019 – A, B e C (Figura 3.4.1. E) a *pars media plectri* apresenta o mesmo tamanho relativo da fenestra oval.

Os espécimes 35051 – A, B e C (Figura 3.4.1. F) apresentam o princípio da condrificação do opérculo como um pequeno semicírculo de cartilagem localizado postero-ventralmente à *pars interna plectri*. Nestes espécimes a *pars media plectri* já começa a apresentar um princípio de ossificação, em sua porção medial. O anel timpânico, ainda no começo de sua formação, se apresenta como uma pequena cartilagem em forma de meia-lua na região anterior à ponta distal da *pars media plectri*. O centro de ossificação do esquamosal já pode ser observado também em forma de meia-lua, maior que o anel timpânico e localizado mais medialmente a esse.

Nos espécimes mais desenvolvidos (14942 – A, B e C; Figura 3.4.1. G), observa-se a ponta distal da *pars media plectri* fusionada à *pars externa plectri*, como uma dilatação dessa. Nestes espécimes o anel timpânico está bem desenvolvido, porém sem ossificação. O opérculo apresenta uma expansão lateral direcionada anteriormente, lembrando o início da formação da columela. O esquamosal esta apoiado no processo que liga a cápsula ótica ao quadrado, tendo uma ponta ventral apoiada diretamente neste.

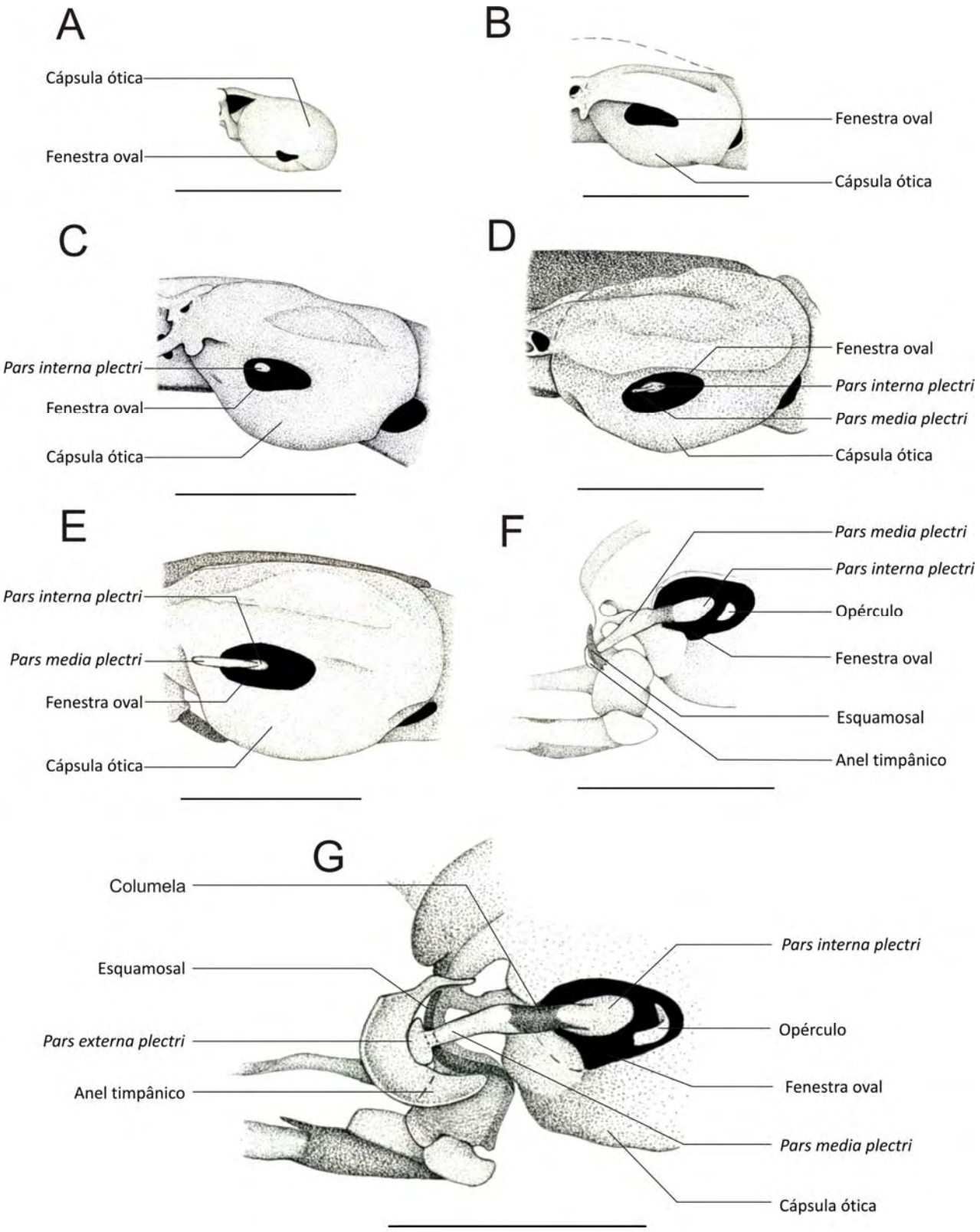


Figura 3.4.1. Cápsulas óticas em visa lateral esquerda de indivíduos diafanizados de *Pipa arrabali*. **A:** 35027-A (CRC: 3,51mm); **B:** 35055-A (CRC: 3,81 mm); **C:** 35000-A (CRC: 5,30 mm); **D:** 35045-C (CRC: 5,67 mm); **E:** 35019-A (CRC: 7,18 mm); **F**: 35051-A (CRC: 8,21 mm) e **G**: 14942-B (CRC: 10,50 mm). As barras correspondem a 1mm.

3.5. Desenvolvimento das cartilagens nasais

No espécime 35027- A (Figuras 3.5.1. A e 3.5.3. A), um dos menores exemplares disponíveis (CRC: 3,51), a placa suprarostral apresenta alas laterais que não chegam a se conectar com o palatoquadrado. A *commissura quadratocranialis anterior* já apresenta o início do desenvolvimento do processo *quadratoethmoidale*. Um tecido ligamentoso, em processo de condrificação (evidenciado pela pálida coloração azul do azul de alcian em alguns trechos) conecta o processo lateral da placa suprarostral à ponta do processo *quadratoethmoidale.*

No espécime 35055 – B (CRC: 4,41 mm) (Figuras 3.5.1. B e 3.5.3. B) a extremidade distal do processo lateral da placa suprarostral em contato com a extremidade distal do processo *quadratoethmoidale*, apresentando uma linha de sutura ainda evidente (indicada na ponta da seta da Figura 3.5.1B).

No espécime 35008 – A (CRC: 5,79 mm) (Figuras 3.5.1. C e 3.5.3. C) a fusão do processo *quadratoethmoidale* à placa suprarostral está completa, sendo que a linha de sutura evidente no estágio anterior não está mais presente.

No espécime 35045 – B (CRC: 5,80 mm) (Figura 3.5.3. D) os processos laterais da placa suprarostral e o processo *quadratoethmoidale* estão erodidos. O *septum nasi* já é evidente logo acima da placa suprarostral. A lâmina orbitonasal está presente antero-lateralmente à região etmoidal e é perfurada pelo forame orbitonasal. Na porção distal da lâmina orbitonasal são evidentes o processo maxilar anterior (voltado para região anterior do crânio) e o processo maxilar posterior (voltado para região posterior do crânio). Da borda anterior do *septum nasi,* na porção ventro-lateral, observa-se a *lamina inferior cristae intermediae*, que está fusionada ao processo maxilar anterior da lâmina orbitonasal. A cartilagem alar está presente anteriormente, como um pequeno filete que se posiciona ao lado da borda anterior do *septum nasi*. O princípio de ossificação da pré-maxila ocorre ventralmente à cartilagem alar.

O espécime 35045 – C (CRC: 5,67 mm) (Figuras 3.5.1. D e 3.5.3. E) apresenta, na região dorso-lateral da borda anterior do *septum nasi*, a cartilagem oblíqua, que forma um arco e está distalmente fusionada ao complexo processo maxilar anterior e a *lamina inferior cristae intermediae*.

No espécime 35019 – B (CRC: 7,12 mm) (Figuras 3.5.2. A e 3.5.3. F) a placa suprarostral, que sofreu um processo de reabsorção, não é mais visível. O septo

nasal pode ser observado como uma parede vertical completa fusionada à caixa craniana posteriormente. A *lamina inferior cristae intermediae* se origina da porção medial da base desta parede. Nesta porção medial, onde a *lamina inferior cristae intermediae* se insere até a borda anterior do septo nasal, forma-se um diminuto piso nasal. O processo maxilar anterior está livre da *lamina inferior cristae intermedia*e e da cartilagem oblíqua, porém a *lamina inferior cristae intermediae* e a cartilagem oblíqua continuam fusionadas entre si. Esta porção distal fusionada das duas lâminas de cartilagem se localiza ventralmente à lâmina orbitonasal e pode ser chamada de *planum terminale*. A cartilagem *praenasalis superior* está visível, partindo do meio da região anterior da cartilagem alar e se apoiando na face posterior da pré-maxila.

Os espécimes 35019 (A e C), 35030 (A, B, C) e 35056 (A, B, C) são muito semelhantes ao 35019 – B, porém o formato da *lamina inferior cristae intermediae* e da cartilagem oblíqua são diferentes e a ponta distal onde ocorre a fusão entre estas duas lâminas cartilaginosas ocupa uma posição mais posterior. Isto indica que esses exemplares representam diferentes estágios de desenvolvimento.

No espécime 35051– A (CRC: 8,21 mm) (Figuras 3.5.2. B e 3.5.3. G) observa-se fusão incipiente (ainda sem muitos pigmentos que indiquem condrificação completa) do *planum terminale* a um processo que parte lateralmente do *planum triangulare* da lâmina orbitonasal, voltado para a região anterior do crânio. Nomeamos esse processo de “processo maxilar lateral”. A septo-maxila já esta presente e apresenta formato semi-lunar.

No espécime 35013 – B (CRC: 7,36 mm) a cartilagem alar apresenta um processo lateral extenso que parece se unir com o processo maxilar anterior; porém, o espécime não está corado suficientemente o que impede uma confirmação.

Nos espécimes recém eclodidos (CRC: 10,50 mm) (14942 – Figuras 3.5.2. C e 3.5.3. H) a fusão do *planum terminale* ao processo maxilar lateral esta bem consolidada. O septo-maxila apresenta um formato tri-radiado. A cartilagem alar é independente e horizontal, ou seja, paralelo ao eixo axial do condrocrânio, sendo dorsalmente côncava e ventralmente convexa. A cartilagem *praenasalis superior* parte da região ventro-medial da cartilagem alar e se apoia distalmente na porção postero-dorsal do processo alar da pré-maxila. O *solum nasi* cobre menos de 10% da face ventral da região nasal.

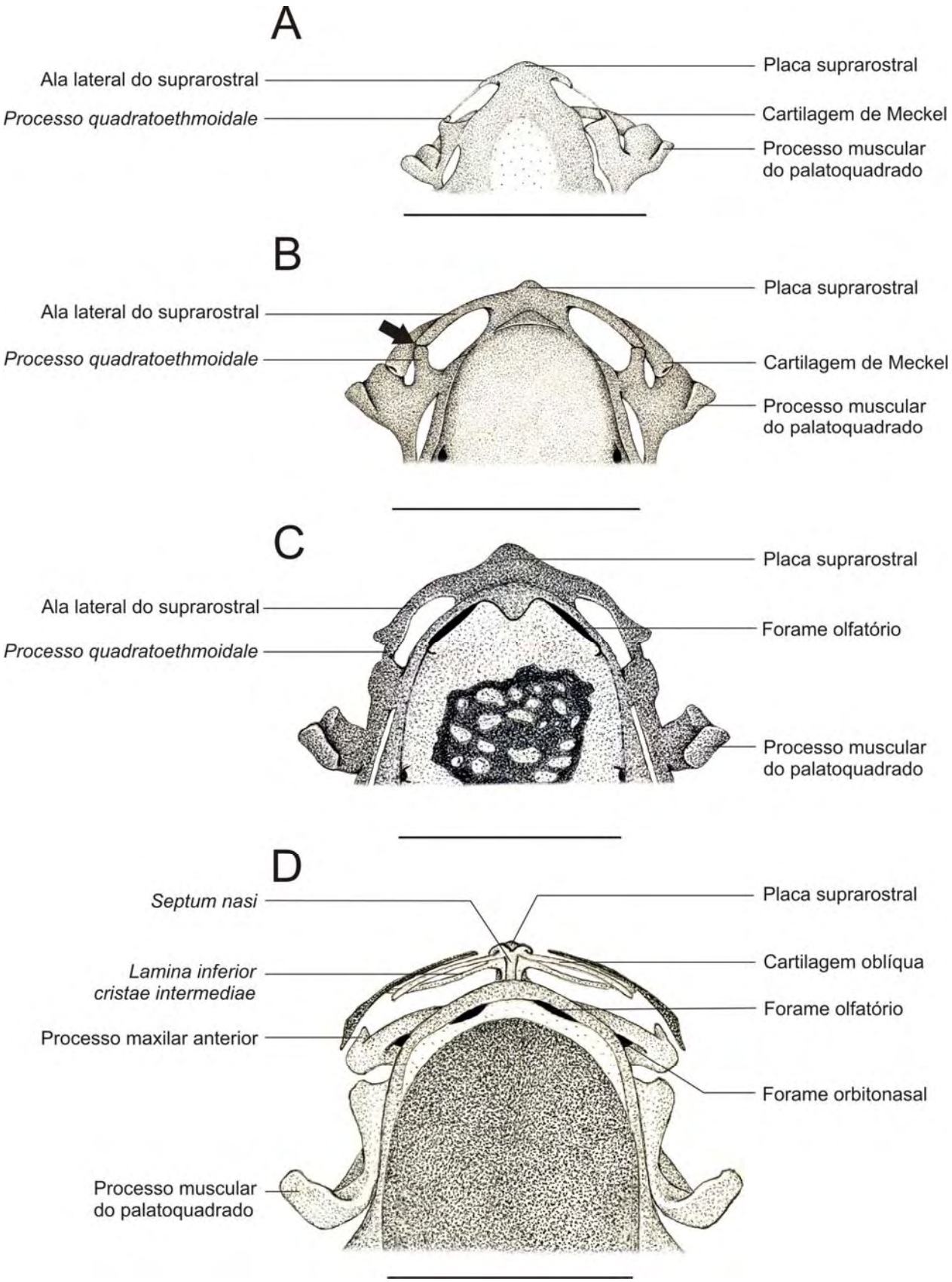


Figura 3.5.1. Região anterior dos condrocrânios diafanizados de *Pipa arrabali*. **A:** 35027-A (CRC: 3,51 mm); **B:** 35055-A (CRC: 3,81 mm); **C:** 35000-A (CRC: 5,30 mm); **D:** 35045-C (CRC: 5,67 mm). As barras correspondem a 1mm.

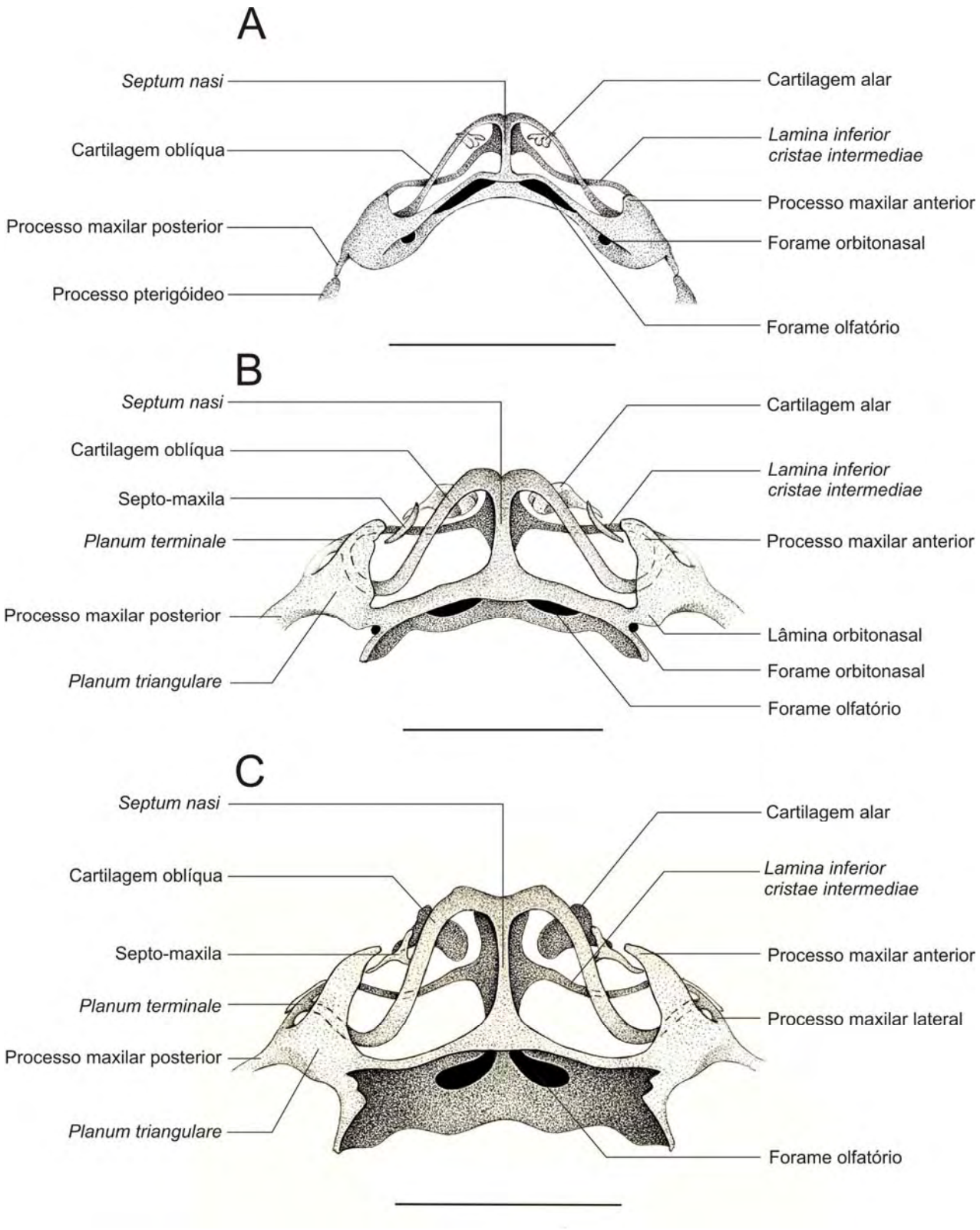
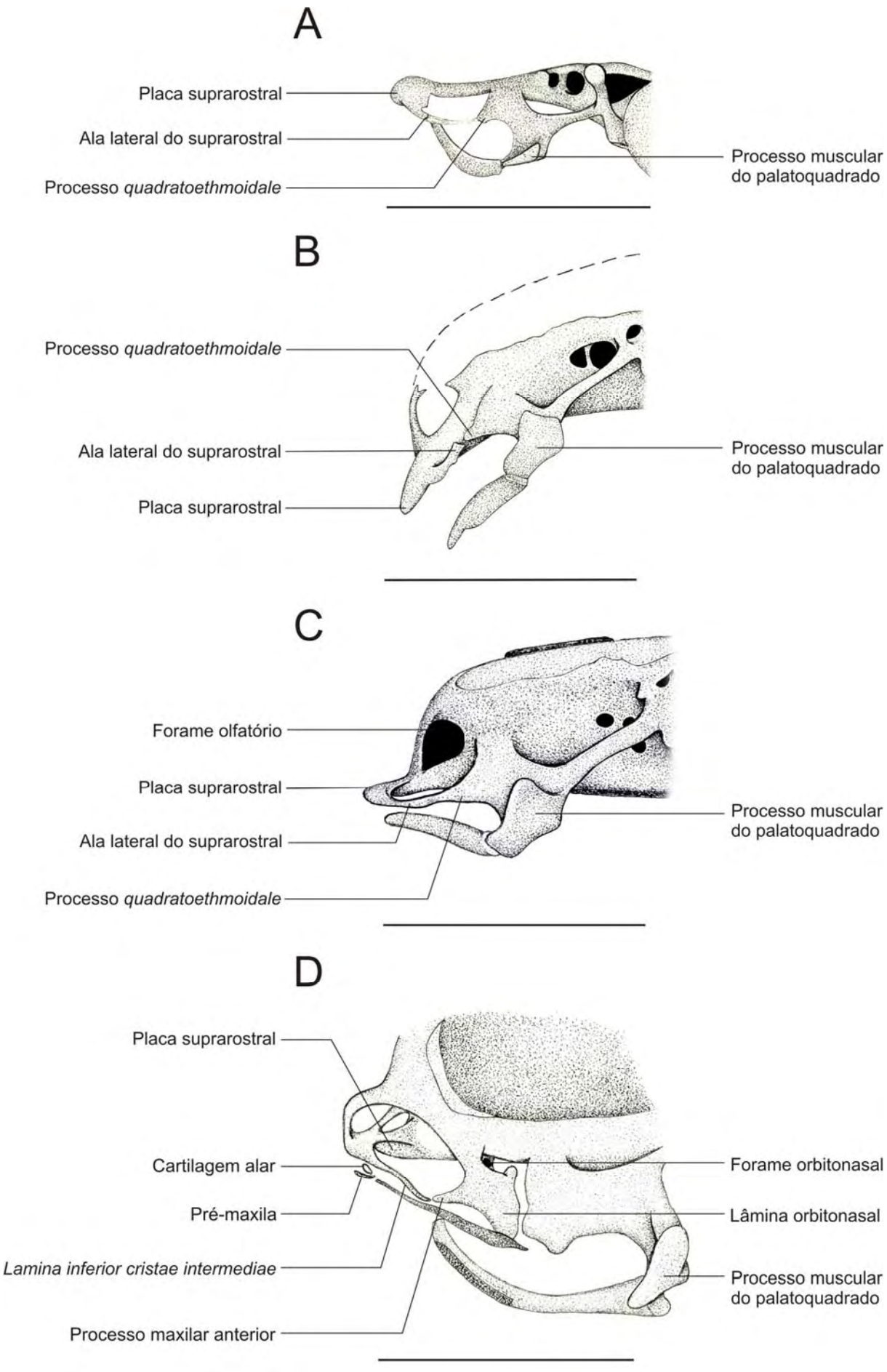
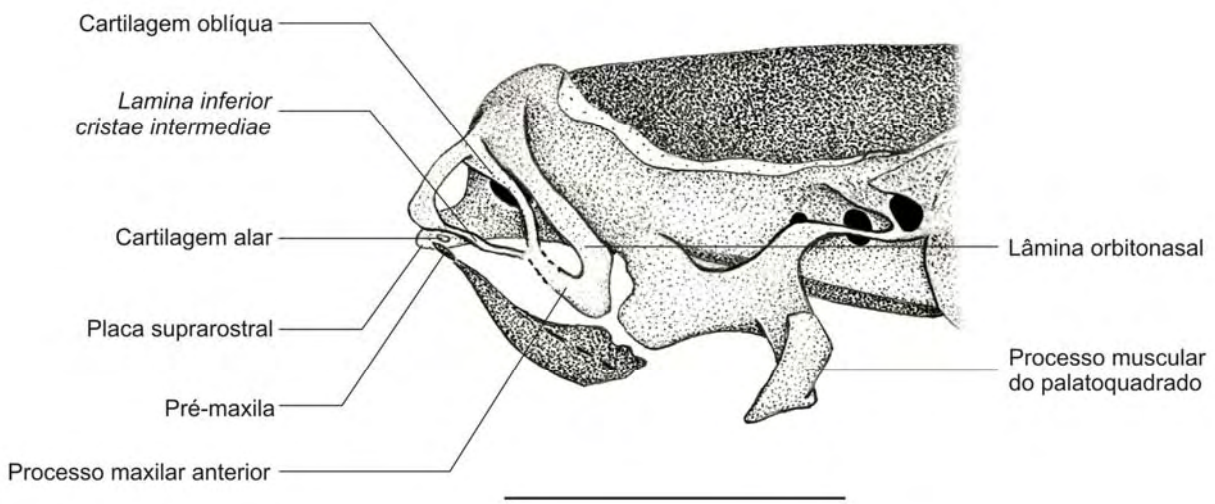


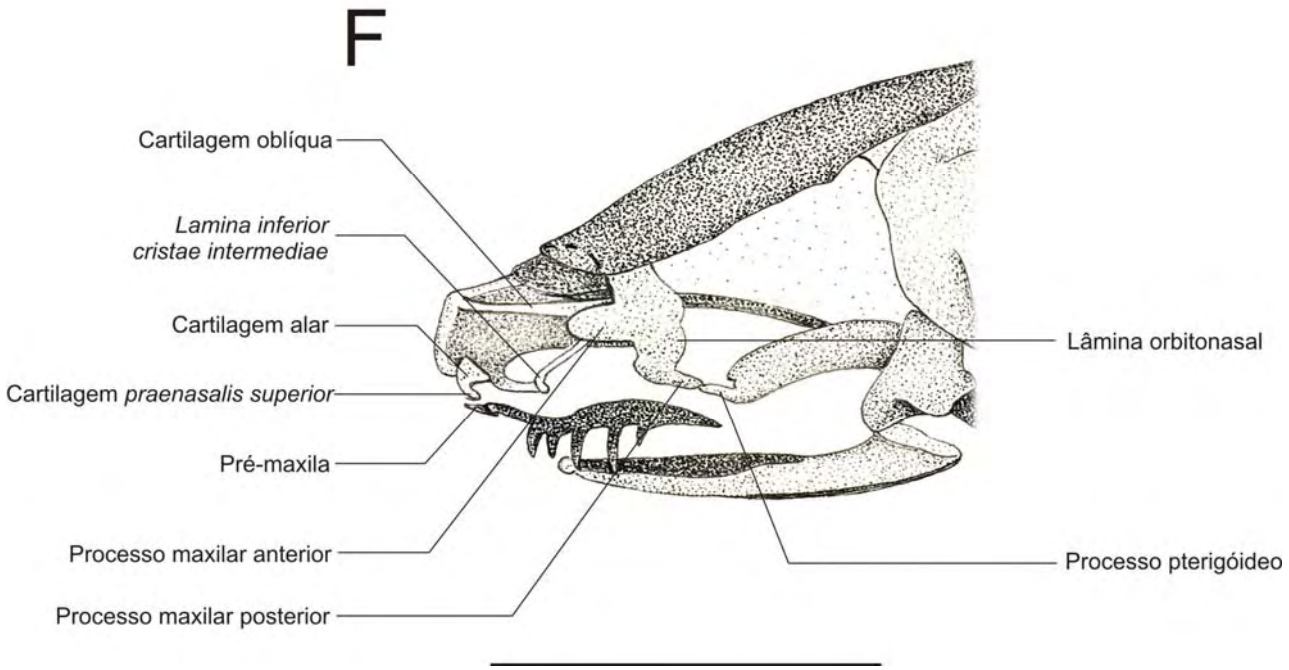
Figura 3.5.2. Região anterior do condrocrânio de indivíduos diafanizados de *Pipa arrabali*, sem os ossos: nasal, frontoparietal, maxila e pré-maxila para facilitar a visualização das cartilagens nasais. **A:** 35019-A (CRC: 7,18 mm); **B**: 35051-A (CRC: 8,21 mm) e **C**: 14942-B (CRC: 10,50 mm). As barras correspondem a 1mm.


A
Placa suprarostral
Ala lateral do suprarostral
Processo *quadratoethmoidale*
Processo muscular do palatoquadrado
B
Processo *quadratoethmoidale*
Ala lateral do suprarostral
Placa suprarostral
Processo muscular do palatoquadrado
C
Forame olfatório
Placa suprarostral
Ala lateral do suprarostral
Processo *quadratoethmoidale*
Processo muscular do palatoquadrado
D
Placa suprarostral
Cartilagem alar
Pré-maxila
Lamina inferior cristae intermediae
Processo maxilar anterior
Forame orbitonasal
Lâmina orbitonasal
Processo muscular do palatoquadrado

E


Cartilagem oblíqua
Lamina inferior cristae intermediae
Cartilagem alar
Placa suprarostral
Pré-maxila
Processo maxilar anterior
Lâmina orbitonasal
Processo muscular do palatoquadrado

F


Cartilagem oblíqua
Lamina inferior cristae intermediae
Cartilagem alar
Cartilagem *praenasalis superior*
Pré-maxila
Processo maxilar anterior
Processo maxilar posterior
Lâmina orbitonasal
Processo pterigóideo

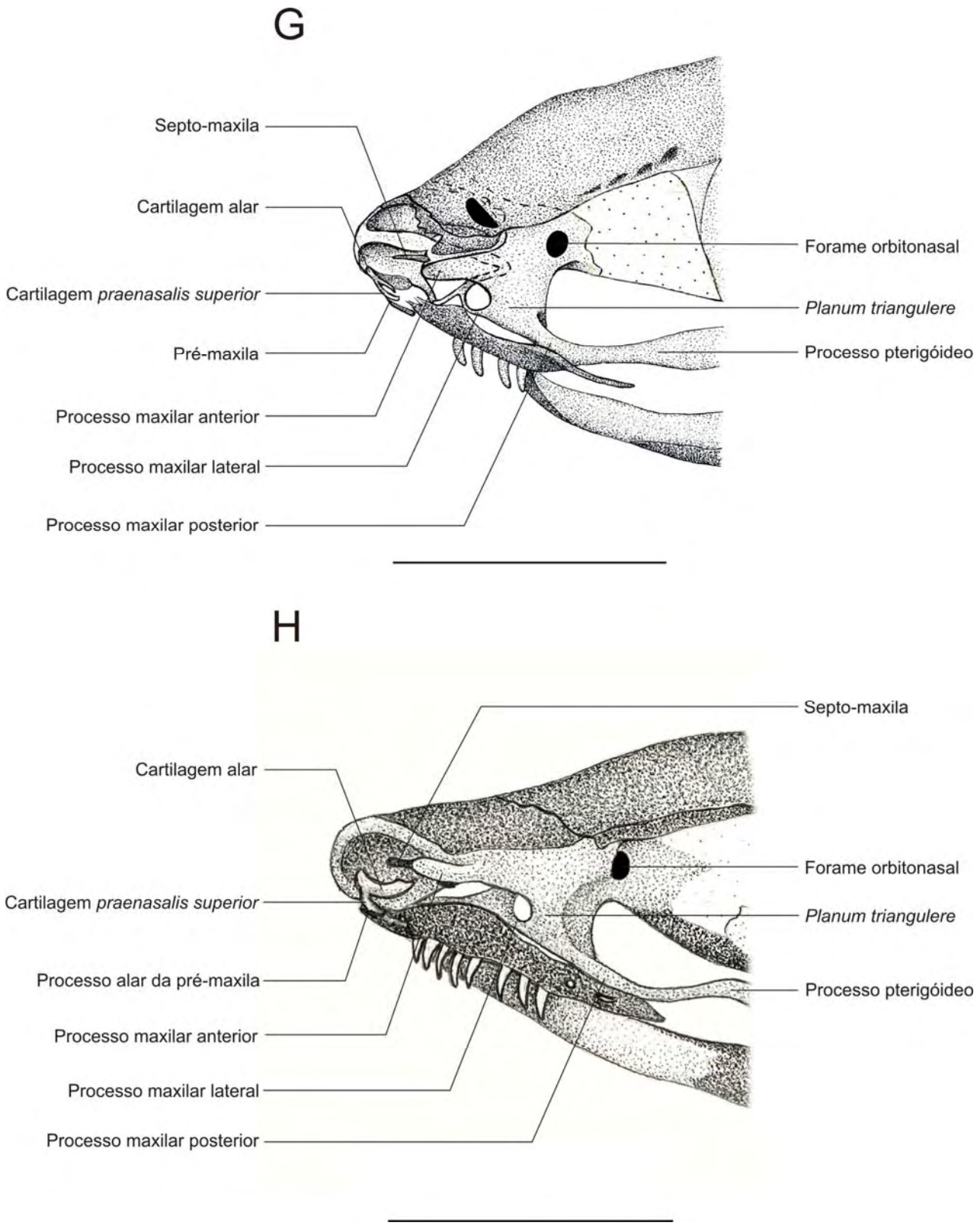


Figura 3.2.3. Região anterior de condrocrânios diafanizados de *Pipa arrabali* em vista lateral esquerda. **A:** 35027-A (CRC: 3,51 mm); **B:** 35055-A (CRC: 3,81 mm); **C:** 35000-A (CRC: 5,30 mm); **D:** 35045-B (CRC: 5,80 mm); **E:** 35045-C (CRC: 5,67 mm); **F**: 35019-A (CRC: 7,18 mm); **G**: 35051-A (CRC: 8,21 mm) e **H**: 14942-B (CRC: 10,50 mm). As barras correspondem a 1mm.

3.6. Desenvolvimento da mandíbula

Nos espécimes 35027 A, B e C (Figura 3.6.1. A) as cartilagens de Meckel apresentam uma angulação muito sutil, sendo quase totalmente paralelas ao plano frontal do embrião. Anteriormente são mais delgadas e progressivamente mais espessas posteriormente. Entre as cartilagens de Meckel existe um único infrarostral que representa cerca de 40 % de cada cartilagem de Meckel.

Nos espécimes 35055 A, B e C (Figura 3.6.1. B) uma angulação suave das cartilagem de Meckel pode ser notada próximo da região distal. O infrarostral é proporcionalmente menor que nos estágios anteriores, representando cerca de 15 % de cada cartilagem de Meckel.

Nos espécimes 35000 e 35008 A, B e C (Figura 3.6.1. C) as cartilagens de Meckel são arqueadas, conferindo à mandíbula um formato de U parecido com o do adulto. Infrarostral muito pequeno representando cerca de 5 % de cada cartilagem de Meckel. Primeiros indícios de aparecimento dos centros de ossificação do ângulo esplenial médio podem ser detectados na porção postero-medial da cartilagem de Meckel.

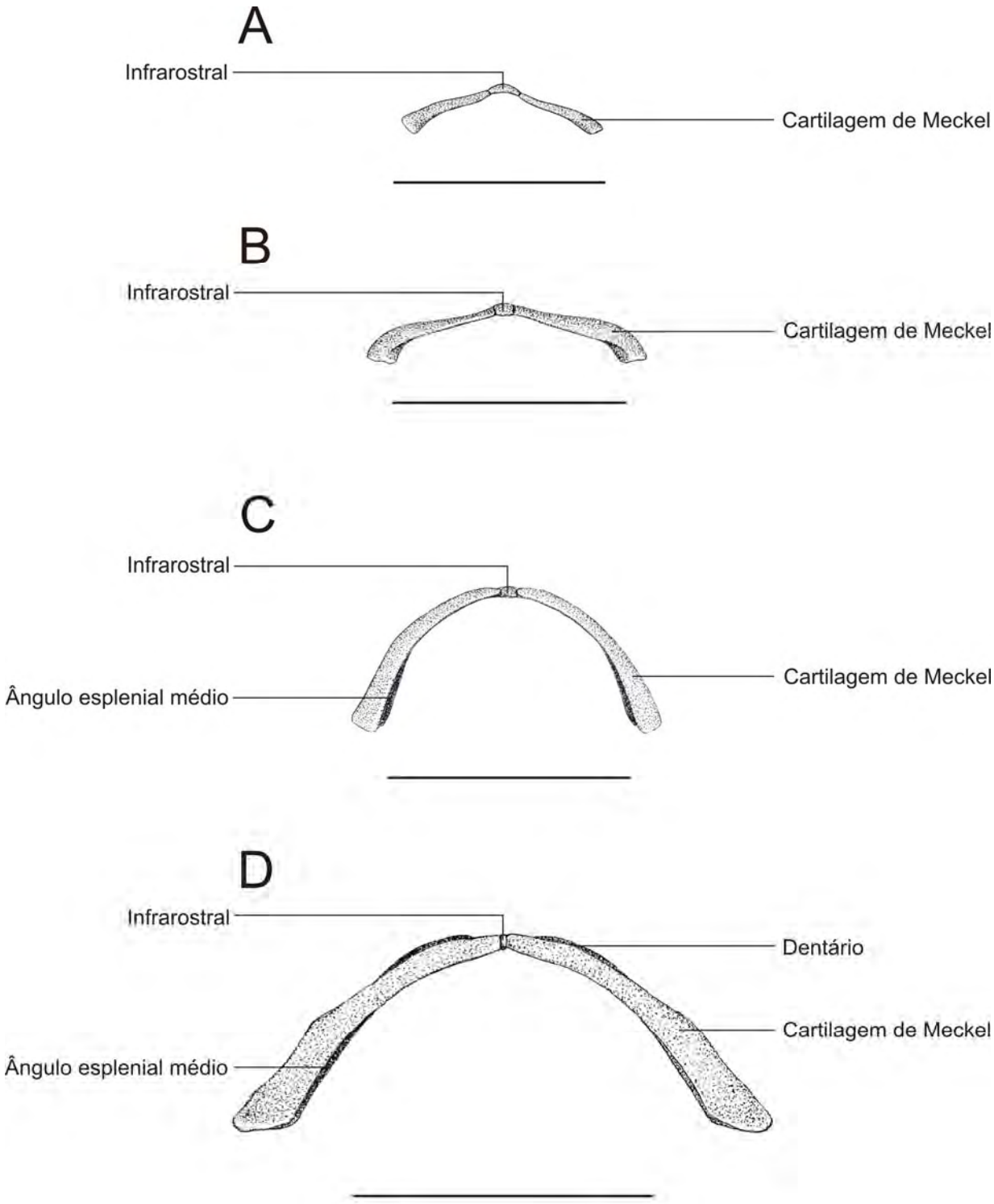
Nos espécimes 35045 A, B e C (Figura 3.6.1. D) a angulação da cartilagem de Meckel esta mais pronunciada. Os primeiros indícios do dentário estão evidente na porção antero-proximal. O infrarostral é ainda menor do que nos estágios anteriores, proporcionalmente, representando menos de 2% de cada cartilagem de Meckel.

Nos estágios 35019 A, B e C (Figura 3.6.1. E) o centro de ossificação do ângulo esplenial lateral pode ser observado na região latero-distal das cartilagens de Meckel. O infrarostral envolve a ponta anterior da cartilagem de Meckel e o espaço entre elas é ínfimo.

Nos espécimes 35051 A, B e C (Figura 3.6.1. F) a angulação da cartilagem de Meckel chega quase a 90^{o}.

Nos espécimes recém eclodidos (14942 - A, B e C; Figura 3.6.1. G) observa-se na região postero-medial da cartilagem de Meckel uma dilatação na face lingual.

As pontas distais da cartilagem de Meckel apresentam um côndilo pronunciado na região onde se articula com o quadrado.



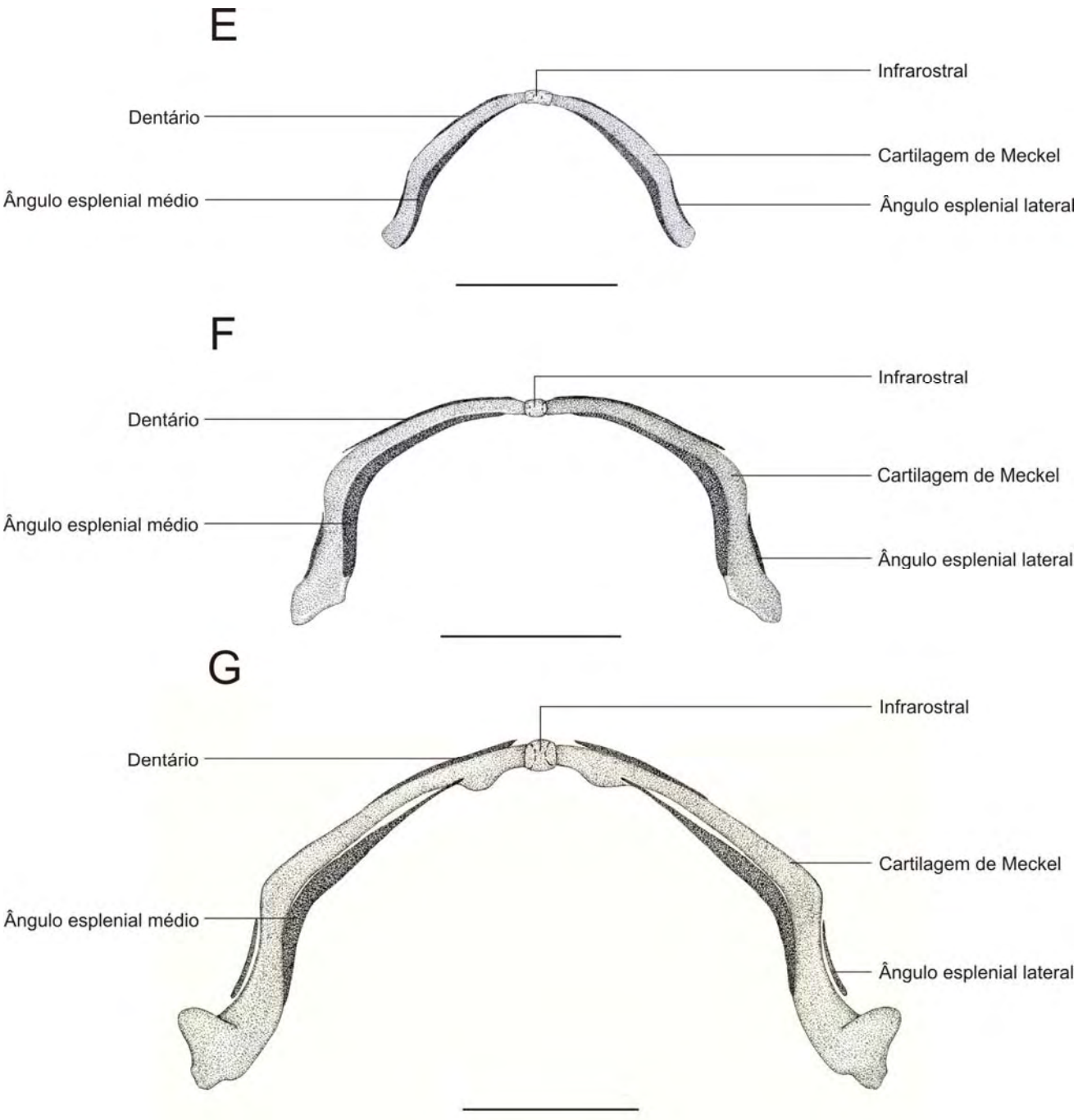


Figura 3.6.1. Mandíbulas em vista ventral de indivíduos diafanizados de *Pipa arrabali*. **A:** 35027-A (CRC: 3,51 mm); **B:** 35055-A (CRC: 3,81 mm); **C:** 35000-A (CRC: 5,30 mm); **D:** 35045-C (CRC:5,67 mm); **E:** 35019-A (CRC: 7,18 mm); **F**: 35051-A (CRC:8,21 mm) e **G**: 14942-B (CRC: 10,50 mm). As barras correspondem a 1mm.

3.7. Ontogenia do aparelho hiobranquial

- **Embriões 35027 – A, B e C**

Nos espécimes mais jovens da série (35027 – A, B e C; Figura 3.7.1.), na região onde o *pars reuniens* se conecta aos ceratohiais, existem semicírculos de cartilagem menos corada. A comissura *terminalis* III se apresenta mais espessa que nos estágios posteriores. Os ceratobranquiais se sobrepõem ao ceratobranquial I, porém sem se tocarem.

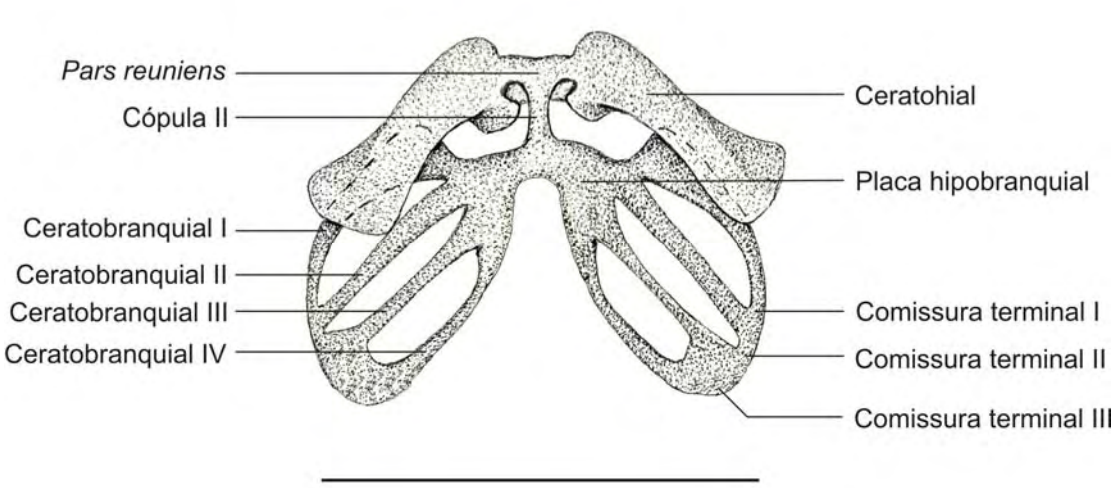


Figura 3.7.1. Aparelho hiobranquial do embrião 35027-A (CRC: 3,51 mm) de *Pipa arrabali*, em vista antero-ventral. As barras representam 1mm.

- **Embriões 35055 – A, B e C**

Os espécimes 35055 – A, B e C (Figura 3.7.3.) são muito parecidos com os 35000 e 35008 – A, B e C; entretanto nos 35055 – A, B e C ainda é possível observar os semicírculos de cartilagem menos corada nos ceratohiais.

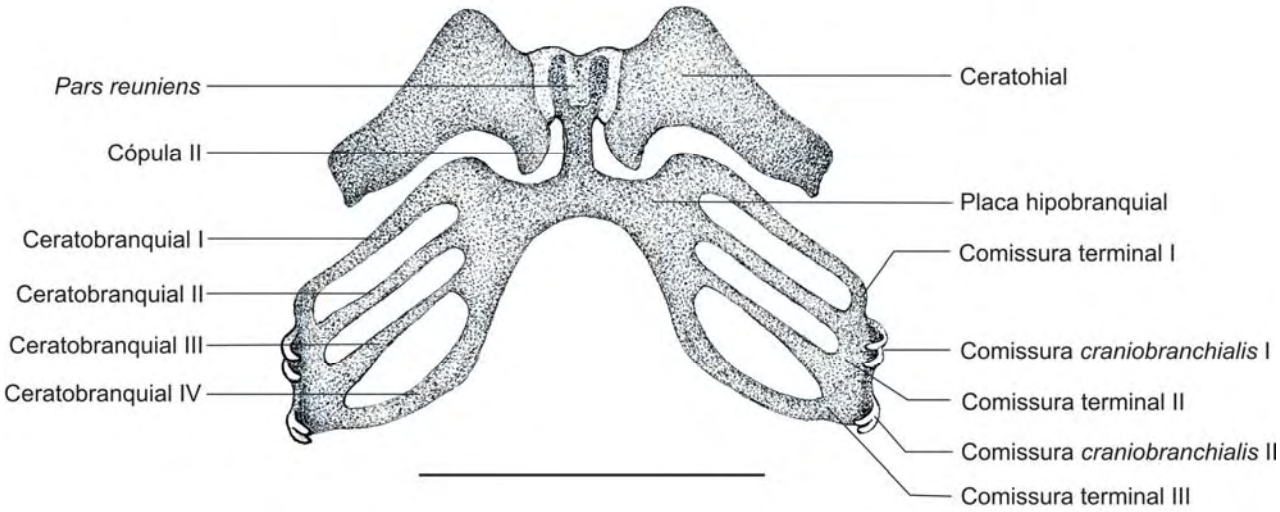


Figura 3.7.2. Aparelho hiobranquial do embrião 35055-A (CRC: 3,81 mm) de *Pipa arrabali*, em vista dorsal. As barras correspondem a 1mm.

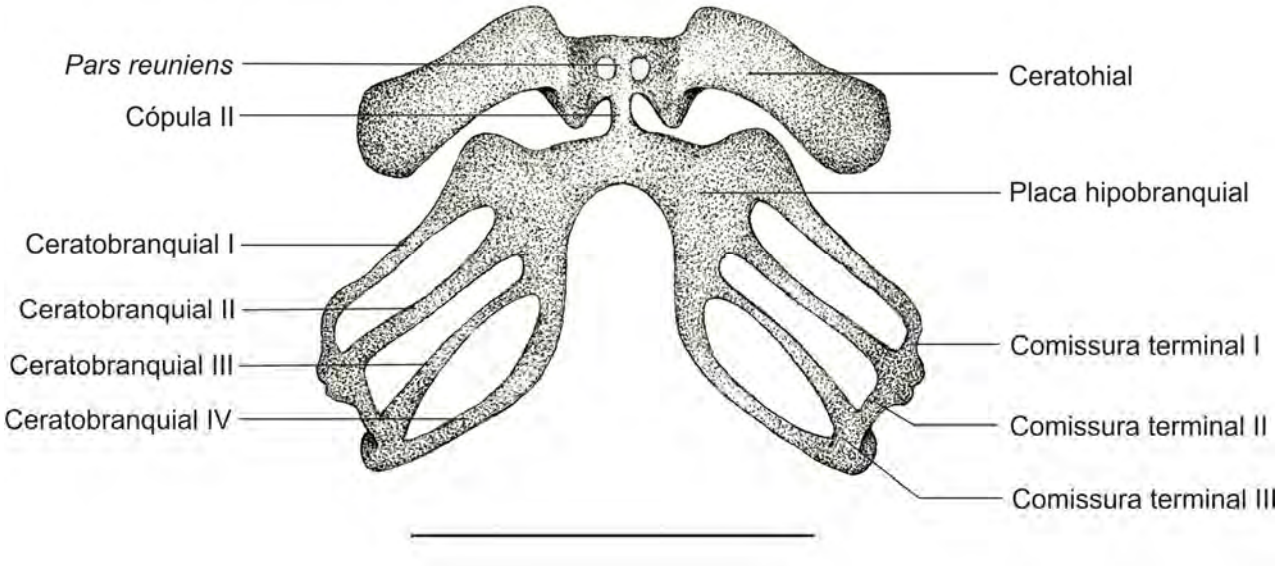


Figura 3.7.3. Aparelho hiobranquial do embrião 35055-A (CRC: 3,81 mm) de *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra corresponde a 1mm.

- **Embriões 35000** e **35008 (A, B e C) – descritos no item 3.3**

- **Embriões 35045 – A, B e C**

Nos espécimes 35045 – A, B e C (Figura 3.7.4.) os cestos branquiais já estão se degenerando. Existem ceratobranquiais rompidos e as comissuras *craniobranchialis* estão livres e distendidas. A distância entre os ceratobranquiais I e os ceratohiais é menor. As placas hipobranquiais estão mais dilatadas posteriormente e os ceratobranquiais IV estão mais largos do que nos estágios anteriores.

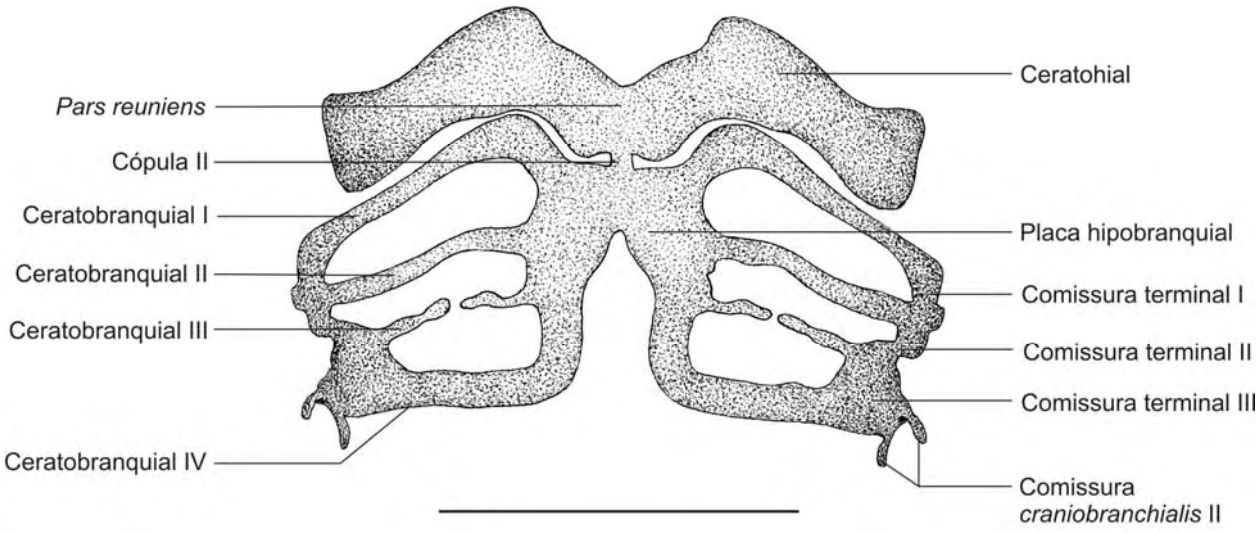


Figura 3.7.4. Aparelho hiobranquial do embrião 35045-C (CRC: 5,67 mm) de *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra corresponde a 1mm.

- **Embriões 35019 – A, B e C**

Nos espécimes 35019 – A, B e C (Figura 3.7.5.) observa-se uma estrutura cartilaginosa em formato de estrela. É possível supor que esta estrutura estelar seja a porção central do aparelho hiobranquial dos embriões mais imaturos, ou seja, é parte das placas hipobranquiais. As pontas posteriores seriam a porção posterior das placas hipobranquiais que nos espécimes 35045 (A, B e C) se apresentavam mais dilatadas e esta nos espécimes 35019 (A, B e C) são o princípio dos processos tirohiais do esqueleto hibranquial adulto. As pontas médias são as porções anteriores das placas hipobranquiais, na altura dos ceratobranquiais I, e agora representam o inicio da formação da ala do esqueleto hiobranquial adulto. Já a ponta anterior seria o resquício apical das placas hipobranquiais associado com à

cópula II. Os ceratobranquiais e os ceratohiais não são mais visíveis. Porém, para confirmar efetivamente estas suposições seria necessário observar indivíduos com desenvolvimento intermediário entre os espécimes 35045 e 35019.

Logo abaixo desta estrutura estelar, com aproximadamente o mesmo tamanho, pode-se ver uma estrutura rudimentar sem definição de formato, o que possivelmente deve ser o princípio da condrificação da laringe.

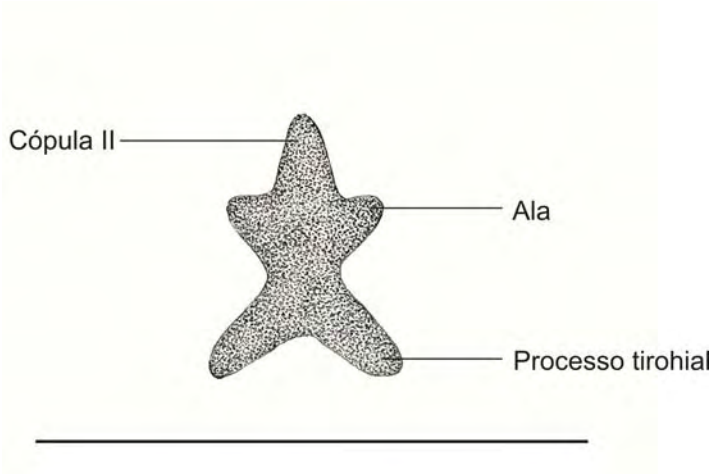


Figura 3.7.5 Aparelho hiobranquial do embrião 35019-A (CRC: 7,18 mm) de *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra corresponde a 1mm.

- **Embriões 35056 – A, B e C**

Nos indivíduos 35056 – A, B e C (Figura 3.7.6.) percebe-se que os tirohiais e a ala do aparelho hiobranquial adulto apresentam-se mais alongados. Sendo os tirohiais maiores que as alas. Ambos apresentam um formato de barras de cartilagem. A ponta anterior daquela estrutura estelar observada não é mais evidente.

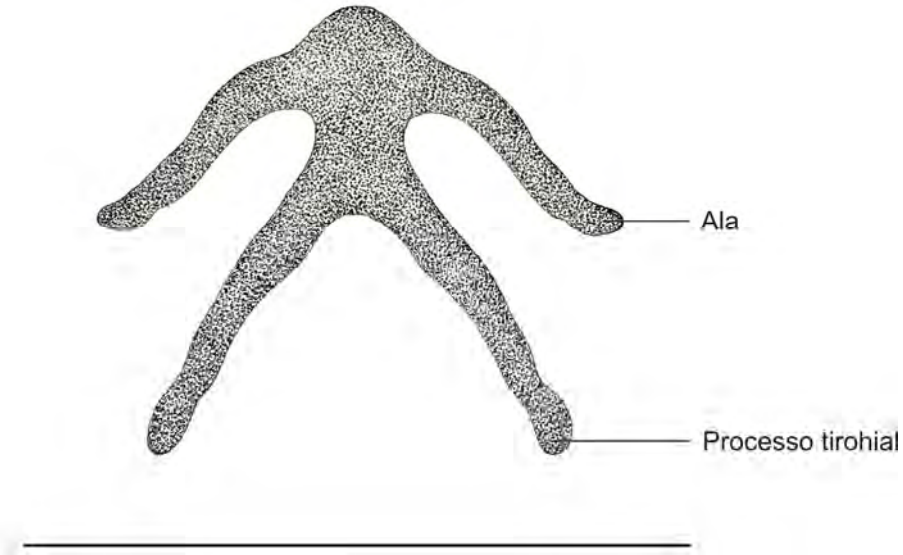


Figura 3.7.6. Aparelho hiobranquial do embrião 35056-A (CRC: 7,28 mm) de *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra corresponde a 1mm.

- **Embriões 35051 – A, B e C**

Nos espécimes 35051 – A, B e C (Figura 3.7.7.) observa-se que a fenestra hioglossal está quase formada, sendo que dois pequenos processos anteriores estão arqueados quase se tocando. Estes pequenos processos partem da borda anterior do aparelho hiobranquial.

As alas se apresentam delgadas e arqueadas com formato de sino direcionado posteriormente. Na extremidade distal tem uma curvatura de aproximadamente 90^{o}, de modo que a extremidade está direcionada lateralmente.

Os tirohiais são mais curtos e menos arqueados que as alas e na região distal existe uma constrição seguida por uma pequena dilatação na ponta do processo.

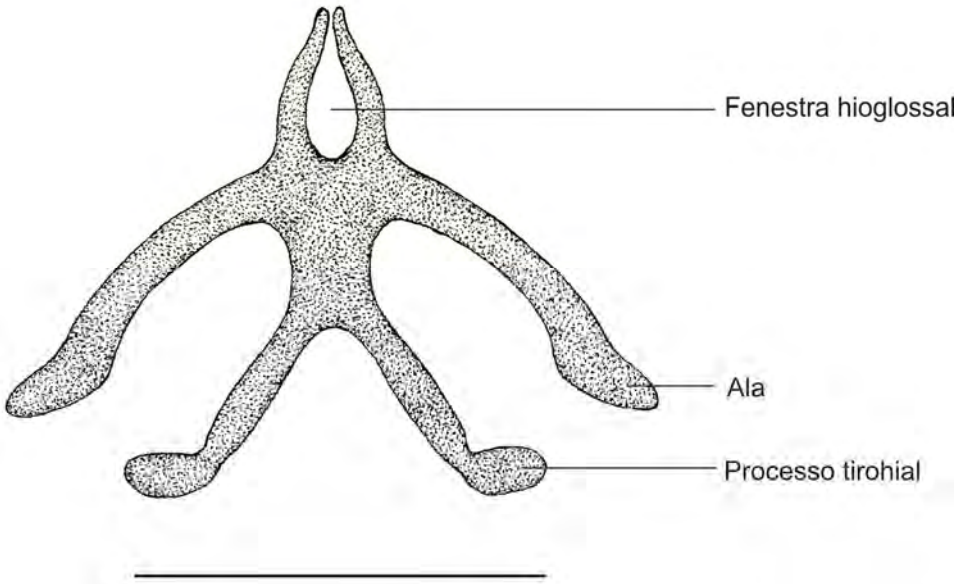


Figura 3.7.7. Aparelho hiobranquial diafanizado do embrião 35051-B (CRC: 7,30 mm) da espécie *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra corresponde a 1mm.

- **Embriões 35059 – A, B e C**

Nos espécimes 35059 – A, B e C (Figura 3.7.8.) observa-se uma pequena expansão delgada na porção mais anterior da fenestra hioglossal, direcionada anteriormente.

As alas apresentam uma dilatação médio-distal pronunciada. Estas expansões mediais são levemente inclinadas para a região dorsal.

Os tirohiais são retos e delgados e encostam-se na sua porção dorso-distal em uma placa cartilaginosa que faz parte do complexo da laringe, que se localiza postero-dorsalmente ao aparelho hiobranquial do adulto.

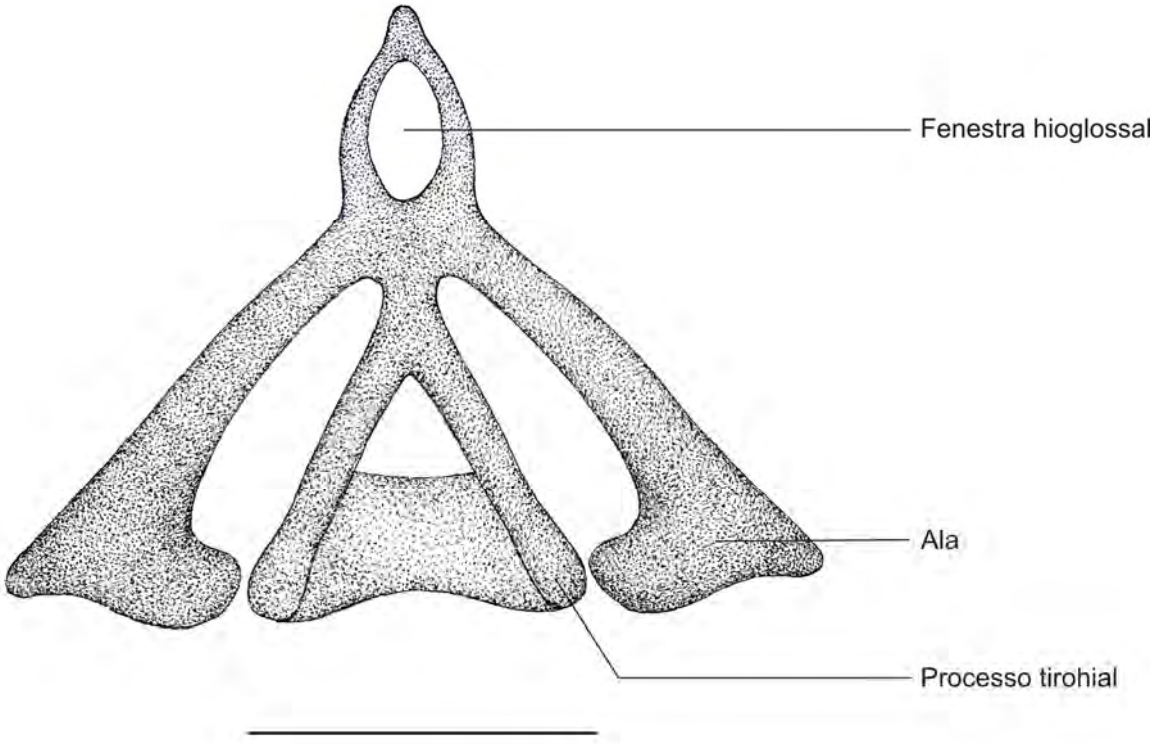


Figura 3.7.8. Aparelho hiobranquial diafanizado do embrião 35059-C (CRC: 12,01 mm) da espécie *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra corresponde a 1mm.

3.8. Ontogenia dos ossos cranianos

3.8.1. Sequência de aparecimento dos ossos

Os ossos cranianos de *Pipa arrabali* aparecem na seguinte sequência de eventos de ossificação: 1º parasfenóide; 2º frontoparietal; 3º ângulo esplenial médio; 4º maxila e pré-maxila; 5º nasal; 6º dentário; 7º exoccipital; 8º proótico; 9º ângulo esplenial lateral; 10º septo-maxila; 11º pterigóide; 12º esquamosal e 13º columela.

Quando os primeiros centros de ossificação dos ossos cranianos começam a surgir (espécimes 35000 e 35008 – A, B e C) o embrião já possui membros posteriores e anteriores.

3.8.2. Sequência do desenvolvimento dos ossos cranianos (ver pranchas Anexo II – Figuras 3,4,5 e 6)

3.8.2.1. Ossos dérmicos

Parasfenóide

Centro de ossificação teniforme na porção ventro-central anterior do piso condrocraniano.

O processo cultriforme começa a se ossificar primeiro, chegando anteriormente até altura da borda anterior do *septum nasi*. Nos primeiros estágios o corpo do parasfenóide apresenta um formato de “gota” (espécimes 35013 – A, B e C; Figura 3.8.1.), e depois toma quase todo o espaço entre as cápsulas óticas (jovens recém eclodidos 14942).

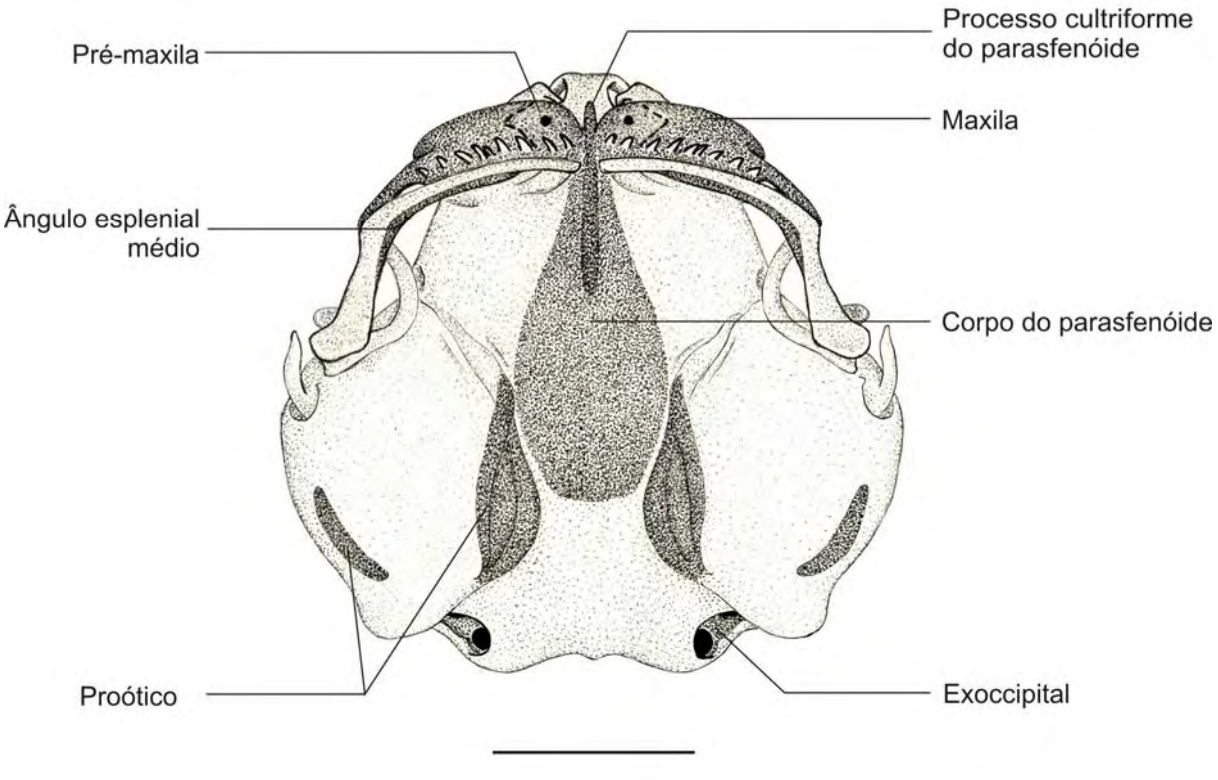


Figura 3.8.1. Crânio do embrião 35013 - B (CRC: 7,36 mm) de *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra corresponde a 1mm.

Frontoparietal

No primeiro estágio em que esse elemento é observado já estão presentes três centros de ossificação, sendo dois antero-mediais (posicionados lado a lado) e um postero-medial. Em estágios um pouco mais avançados, estes centros de ossificação se expandem sincronicamente até que os dois anteriores se fundem e, mais tarde, esse conjunto se funde com o posterior (adquirindo um formato de “T” na porção medial da fontanela frontoparietal). A ossificação progride preenchendo toda

a fontanela frontoparietal, primeiro anteriormente e depois posteriormente. Em estágios mais avançados, como nos espécimes 35019 (A, B e C), o frontoparietal sobrepõe os nasais, antes mesmo de preencher posteriormente toda a fenestra frontoparietal. O forame pineal pode ser observado na porção antero-medial do osso frontoparietal nos espécimes recém eclodidos (35001 e 14942 A, B e C). Nesses indivíduos existem sulcos rasos tripartindo o frontoparietal, delimitando justamente as áreas onde se localizavam os três centros de ossificação no inicio da formação do osso.

Nestes espécimes recém eclodidos já se observa a ala antero-lateral do frontoparietal, como uma pequena aba descendo perpendicularmente ao plano do osso.

Ângulo esplenial médio

Um centro de ossificação surge na face interna do ângulo médio de cada cartilagem de Meckel, próximo à porção distal. Esses pequenos centros se expandem abraçando a cartilagem de Meckel como uma calha (Figuras 3.6.1. C, D, E, F e G)

Maxila

Centro de ossificação em forma de bastão, localizado ventralmente, próximo à junção do processo pterigóideo do quadrado com o processo maxilar inferior. Neste estágio, o osso já se estende anteriormente até a região ventral à cartilagem alar. A partir dos indivíduos 35019 – A, B e C a *pars dentalis* já apresenta dentes minúsculos. A partir dos espécimes 35051 – A, B e C a região distal da maxila, próximo à região orbital do embrião, não está diferenciada nas distintas partes: facial, dental e palatina. A partir desses indivíduos o processo palatino da maxila é evidente.

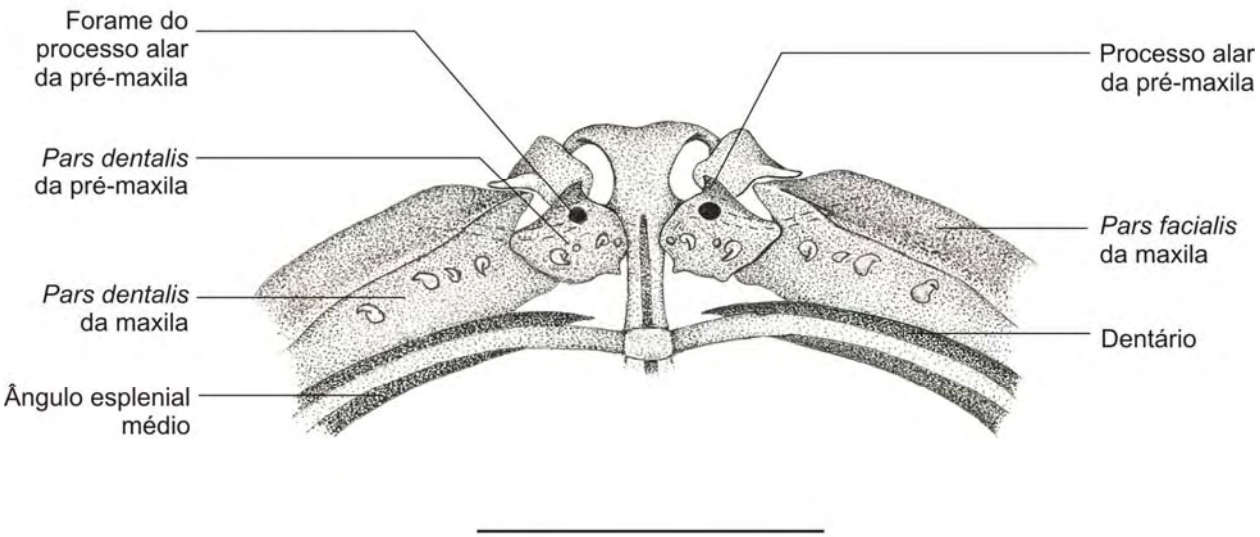


Figura 3.8.2. Detalhe da região anterior do crânio do embrião 35051-A (CRC: 8,21 mm) de *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra corresponde a 1mm.

Pré-maxila

Centro de ossificação em forma de um pequeno filete encostado na borda ventral da cartilagem *praenasalis superior*. A *pars dentalis* se desenvolve posteriormente e já apresenta poucos dentes diminutos. Desenvolve-se um processo alar, porém permanecem quase no mesmo plano da *pars dentalis*. O processo alar apresenta um forame em sua base (Figura 3.8.2.).

Nasal

Nos primeiros estágios em que o osso é observado apresenta a forma de meia-lua com as pontas direcionadas anteriormente e a margem dorsal apoiada sobre a parede anterior da caixa craniana (sobre a *taenia ethmoidales*). Neste estágio, o frontoparietal já se sobrepõe ao nasal. Nos indivíduos recém eclodidos (35001 e 14942 A, B e C) o nasal tem um formato oval, com sua borda latero-medial sobrepondo um pouco o septo nasal, sua borda latero-distal sobrepondo o processo anterior maxilar e anteriormente uma parte da septo-maxila e sobrepondo uma parte da cartilagem oblíqua. Nos estágios mais avançados os nasais não estão fusionados.

Dentário

No primeiro estágio em que o osso pode ser observado possui um formato filiforme e localiza-se na porção anterior da cartilagem de Meckel. Nos estágios

posteriores irradia-se envolvendo anteriormente essa cartilagem (Figura 3.6.1. D, E, F e G).

Ângulo esplenial lateral

Surge como um pequeno centro de ossificação filiforme localizado na porção distal da face externa de cada cartilagem de Meckel. A ossificação progride envolvendo a cartilagem de Meckel, dando ao osso um aspecto de calha (Figura 3.6.1. E, F e G).

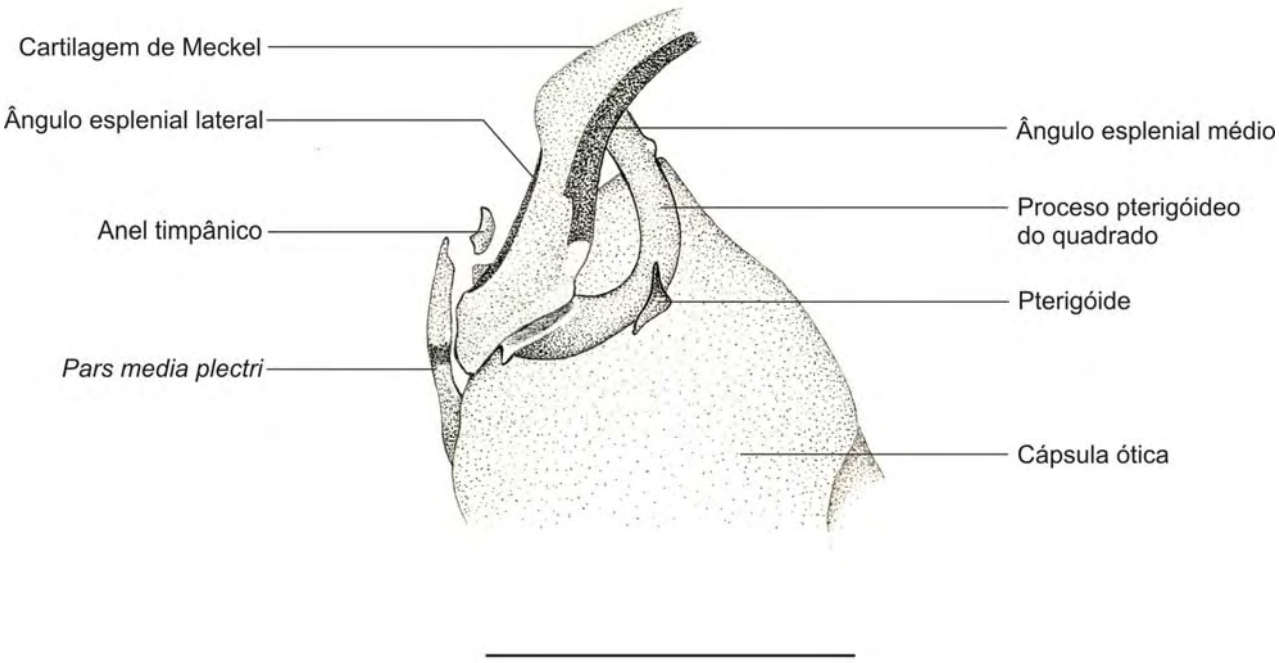


Figura 3.8.3. Detalhe da região articular da mandíbula com o crânio do jovem recém eclodido 35051-A (CRC: 8,21 mm) de *Pipa arrabali*, em vista ventral do lado direito. A barra corresponde a 1mm.

Septo-maxila

Centro de ossificação em forma de um pequeno filete. Em estágios mais avançados já se apresenta como uma meia-lua rasa com as pontas voltadas anteriormente (Figura 3.5.2. B). O osso cresce e na porção dorsal da meia lua apresenta uma segunda ponta (Figura 3.5.2. C). O nasal sobrepõe quase totalmente a septo-maxila nos espécimes recém eclodidos (35001 e 14942 A, B e C)

Pterigóide

A primeira vez em que o osso pode ser observado tem um formato trirradiado e se apóia ventralmente ao processo pterigóideo do quadrado (Figura 3.8.3.). Nos

espécimes mais maduros os ramos se apresentam maiores e o ramo posterior se apóia entre a porção ventro-anterior da cápsula ótica e a porção posterior do processo pterigóideo do quadrado, formando um ângulo reto com plano sagital do condrocrânio. O ramo medial do pterigóide se projeta postero-medialmente se apoiando ventralmente na porção antero-medial da cápsula ótica, assumindo um direcionamento obliquo-posterior. O ramo anterior do pterigóide se apóia no processo pterigóideo do quadrado, direcionado anteriormente (Figura 3.8.4.). Nos indivíduos recém eclodidos (35001 e 14942 A, B e C) não esta presente a placa ótica do pterigóide.

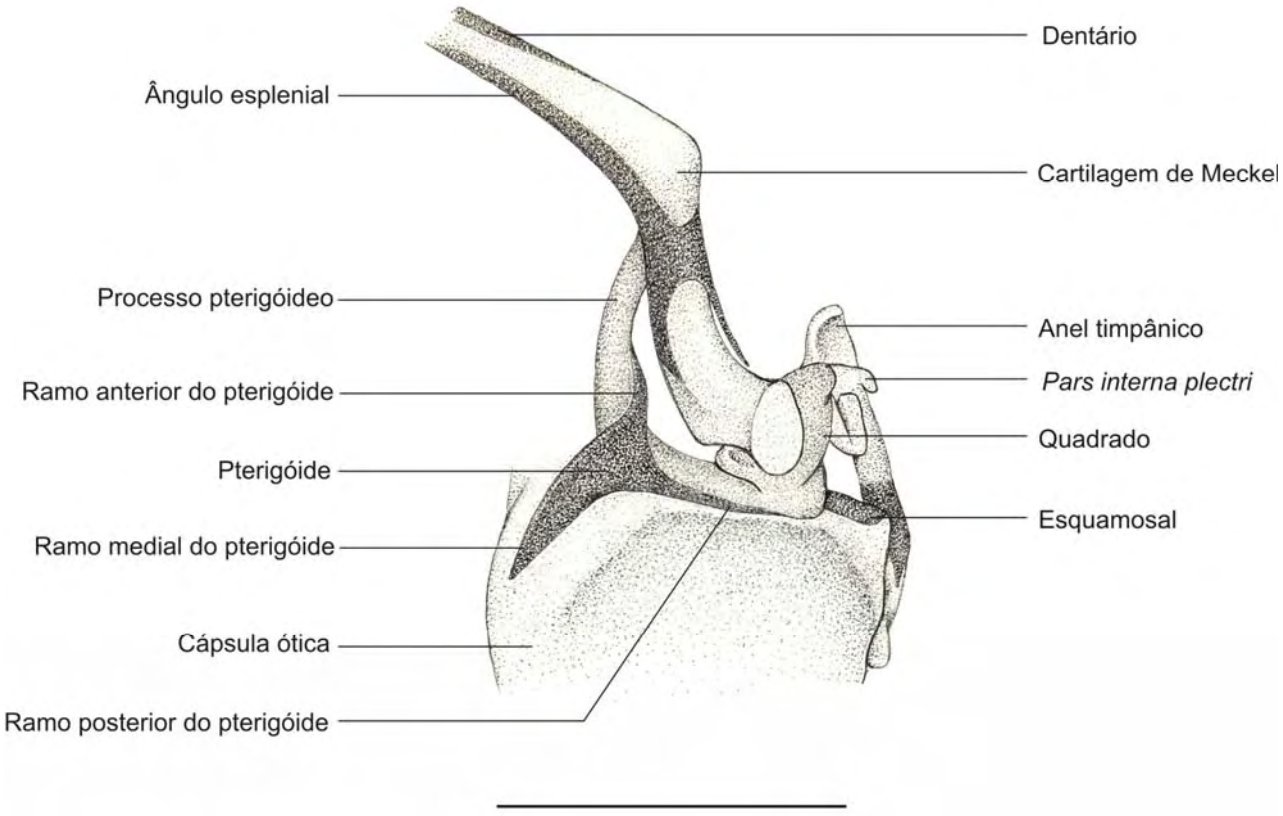


Figura 3.8.4. Detalhe da região articular da mandíbula com o crânio do jovem recém eclodido 14942-B (CRC: 10,50 mm) de *Pipa arrabali*, em vista ventral do lado esquerdo. A barra corresponde a 1mm.

Esquamosal

O osso tem um formato de semi-lua quando observado pela primeira vez, sendo o ramo zigomático a ponta da semi-lua localizada mais dorsalmente e o ramo ventral a ponta localizada mais ventralmente. Ambos os ramos se direcionam para a região posterior do embrião. Inicialmente o ramo ventral está apoiado no quadrado e o restante se apóia sobre o processo que liga a cápsula ótica ao quadrado.

Acompanha a borda proximal do anel timpânico. Expande-se circundando a porção anterior desta margem (Figuras 3.8.5. e 3.4.1. F e G).

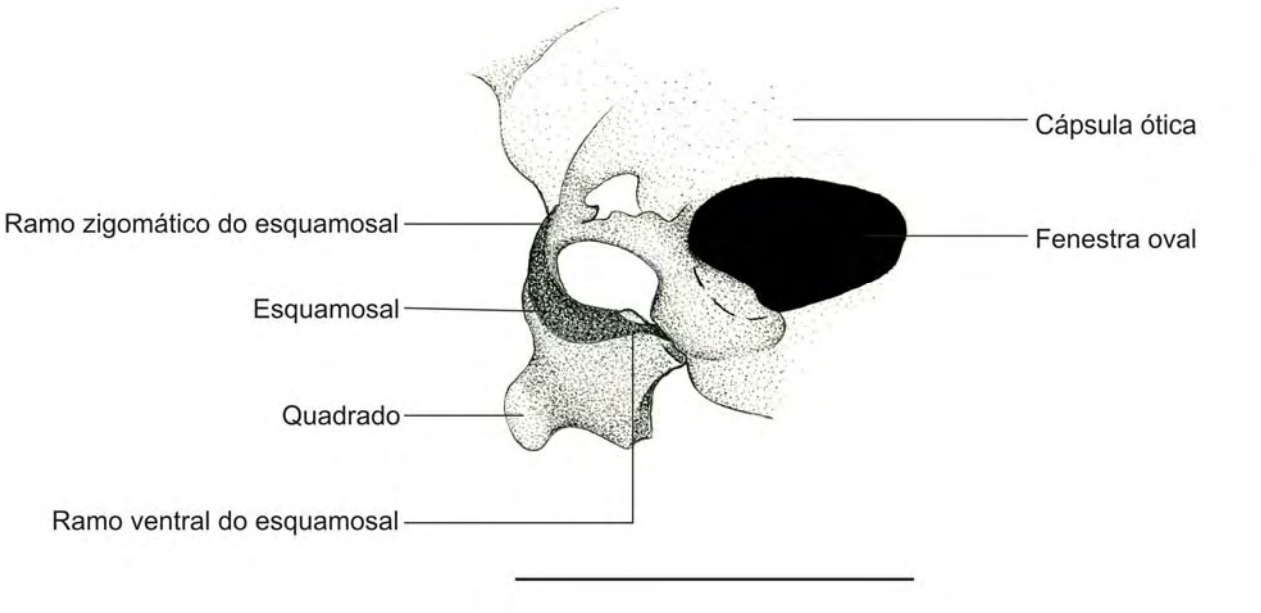


Figura 3.8.5. Detalhe da região ótica do jovem recém eclodido 14942-B (CRC: 10,50 mm) de *Pipa arrabali*, em vista lateral esquerda, sem o aparelho plectoral. A barra corresponde a 1mm.

3.8.2.2. Ossos endocondrais

Proótico

Surge primeiro um centro de ossificação localizado na porção centro-medial da cápsula ótica (na região entre os forames acústicos e os forames endolinfáticos) e posteriormente surge outro centro de ossificação na poção postero-lateral da cápsula ótica, abaixo da crista parótica (Figura 3.8.1.).

Exoccipital

A princípio se apresenta triradiado na fossa condilóidea (Figura 3.8.6.). Se irradia tomando as laterais e a parte posterior do teto sinótico nos espécimes mais velhos, recém eclodidos (35001 e 14942 A, B e C), evidenciando um estágio de ossificação ainda incipiente do osso. A fusão com proótico não foi observada nos estágios analisados.

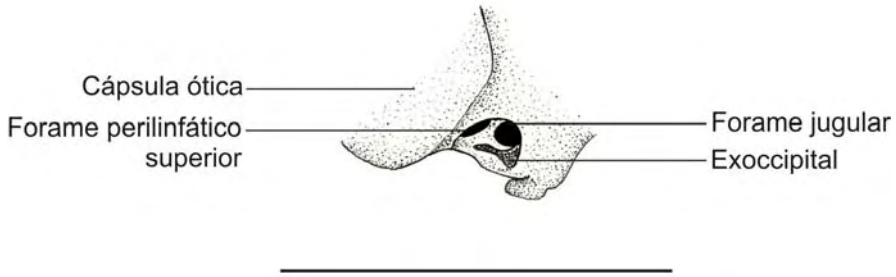


Figura 3.8.6. Detalhe da fossa condilóidea direita do embrião 35051 - A (CRC: 8,21 mm) de *Pipa arrabali*, em vista ventral. A barra corresponde a 1mm.

Columela

A primeira vez em que o osso pode ser observado já aparece envolvendo a porção medial da *pars media plectri* (Figura 3.4.1. F e G).

Ossos ausentes: Vômer (dérmico), quadratojulgal (dérmico), palatinos (dérmicos), mentomeckelianos (endocondrais), esfenetmóide (endocondral).

3.9. Visão geral da ontogenia condrocraniana de *Pipa arrabali*

Analisando-se os exemplares em ordem crescente de CRC, observa-se que o tamanho da cauda aumenta gradativamente, havendo uma correlação positiva entre o tamanho da cauda e o CRC até os exemplares com cerca de 7 mm CRC (Tabela 1). Nos embriões com CRC entre 7 e 9 mm percebe-se a abrupta reabsorção da cauda (Tabela 1) marcando o fim da metamorfose. Exatamente nestes indivíduos observa-se o clímax da ontogenia condrocraniana de *Pipa arrabali* (Figura 3.9.1).

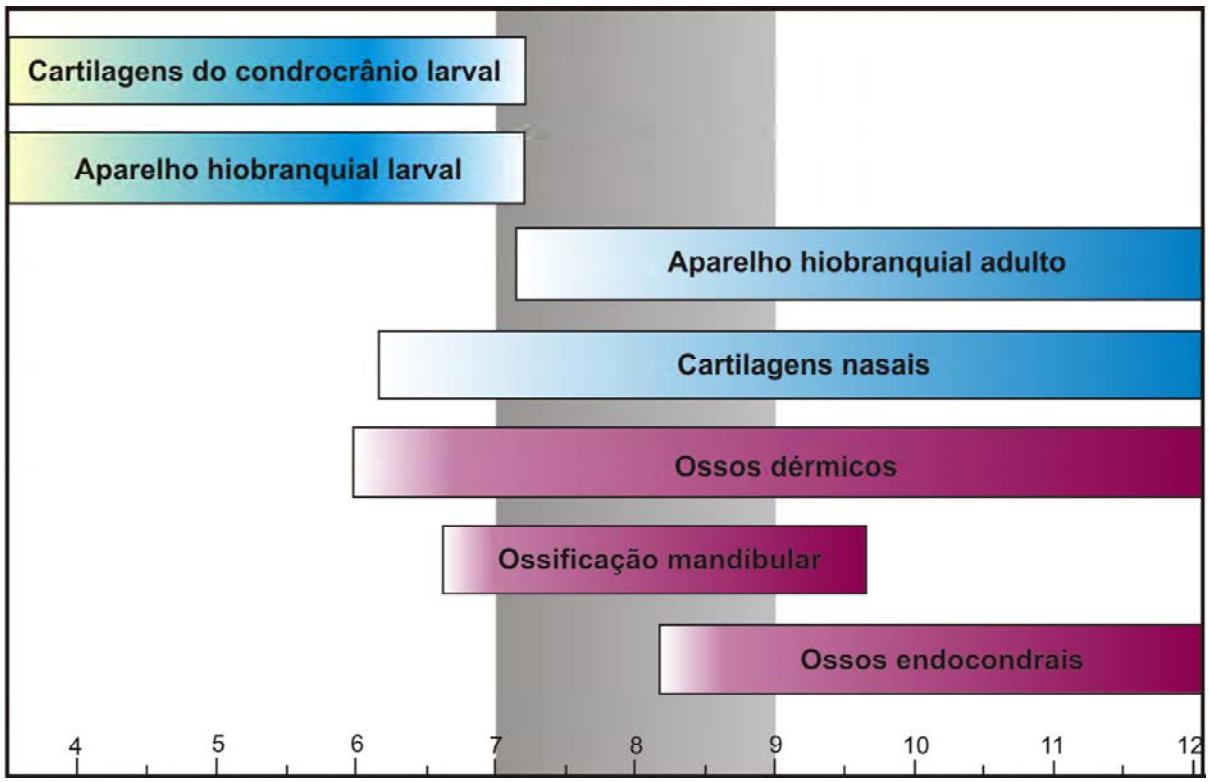


Figura 3.9.1. Gráfico representando o desenvolvimento geral do condrocrânio e do aparelho hiobranquial de *Pipa arrabali*. Eixo horizontal representa o CRC (mm) dos espécimes. A área demarcada em cinza representa o clímax da metamorfose.

4. Discussão

4.1. Determinação dos estágios de desenvolvimentos

A maioria das tabelas desenvolvidas para estabelecer estágios de desenvolvimento foi feita para anuros com desenvolvimento indireto (e. g. TAYLOR; KOLLROS, 1946; NIEUWKOOP; FABER, 1956; GOSNER, 1960). Duas tabelas já foram elaboradas para anuros com desenvolvimento direto: uma para *Gastrotheca riobambae* (DEL PINO; ESCOBAR, 1981) e outra para *E. coqui* (TOWNSEND; STEWART, 1985). Ambas são baseadas principalmente em características externas dos embriões, portanto, muito semelhantes à tabela desenvolvida por Gosner (1960), porém esta ultima foi desenvolvida com o intuito de ser uma tabela generalizada que conseguisse atribuir estágios para a maioria das espécies norte americanas de Bufonidae, Hylidae, Pelobatidae e Ranidae. Já as tabelas para espécies com desenvolvimento direto, apresentam atributos muito específicos para essas espécies (e.g. cor da íris) sendo difíceis de serem aproveitadas para as demais espécies com desenvolvimento direto. Com isso, os autores que estudam desenvolvimento em espécies com desenvolvimento direto utilizam de outros atributos dos embriões para classificá-los em estágios distintos. Trueb et al. (2000), por exemplo, ao estudar a sequência de desenvolvimento de *Pipa pipa,* classificaram os embriões pelo tamanho e tentaram ajustar os estágios com as tabelas de Nieuwkoop e Faber (1956) e Gosner (1960). Trueb et al. (2000) se basearam principalmente no tamanho da cauda e no momento em que cauda desaparece. Como os adultos de *Pipa pipa* são muito maiores que os de *P. arrabali* e não se sabe a velocidade com que crescem, não é possível se comparar diretamente os embriões de com base no tamanho.

A fixação dos embriões em posição inadequada dificultou ainda mais o estabelecimento de estágios. O posicionamento inadequados dos embriões deveu-se principalmente aos filhotes no dorso das fêmeas estarem confinados ao pequeno espaço de cada alvéolo, o que proporcionou o endurecimento dos embriões contorcidos, impossibilitando a precisão das medidas realizadas. A massa dos embriões, que não é tão influenciada por este fator, ajudou a contornar este problema.

A similaridade de desenvolvimento entre os embriões irmãos indica que diferentes áreas do dorso da mãe mantêm condições de desenvolvimento semelhantes e que possivelmente a eclosão dos jovens de cada fêmea é simultânea. Isto indica também que possivelmente os filhotes são provenientes de um único evento de cruzamento, ocorrido em um mesmo dia, o que aumenta a probabilidade de serem todos filhos de um mesmo macho.

4.2. Descrição do condrocrânio dos espécimes 35000 e 35008 (A, B e C)

Em *Pipa arrabali* o palatoquadrado, a região suprarostral e a região etmoidal são extremamente reduzidas quando comparadas a mesma região dos demais xenoanuros (tabela 4.2.1.) e dos demais anuros de uma forma geral (e.g. DE BEER 1937; DE JONGH 1968), sendo que uma redução parecida somente pode ser observada em *P. pipa* (PARKER 1896), mesmo assim, a redução encontrada em *P. arrabali* é ainda mais drástica.

Tabela 4.2.1 – Porcentagens da cápsula ótica, da região etmoidal e suprarostral, da fenestra frontoparietal e do palatoquadrado em relação ao comprimento total dos condrocrânios de algumas espécies de Xenoanura.

	Hymenochirus boettgeri	*Pipa arrabali*	*Pipa carvalhoi*	*Pipa parva*	*Pipa pipa*	*Rhinophrynus dorsalis*	*Silurana tropicalis*	*Xenopus laevis*
Cápsula ótica	50%	50%	35%	35%	50%	30%	25%	35%
Regiões suprarostral e etmoidal	25%	5%	20-25%	25%	15%	30%	45%	35%
Fenestra frontoparietal	65%	85%	70%	65%	75%	55%	45%	50%
Palatoquadrado	40%	30%	45%	50%	30%	45%	50%	55%

Referências - *Pipa arrabali*: presente trabalho; *P. pipa*: Parker (1876); *P. carvalhoi*: Sokol (1977) e observações pessoais; *P. parva*: observações pessoais; *Xenopus laevis*: Sedra e Michael (1957), Trueb e Hankem (1992); *Hymenochirus boettgeri*: De Sá e Swart (1999); *Rhinophrynus dorsalis*: Swart e De Sá (1999).

Sokol (1977) propõe que nos exemplares de Pipidae observados por ele há um encurtamento das regiões suprarostral e etmoidal. Em *P. arrabali* essa característica se evidencia, sendo um caso mais extremo deste encurtamento.

Sokol (1977) não encontrou em *Pipa carvalhoi* o forame carótico primário nem o craniopalatino; entretanto, em *P. arrabali* apenas o carótico primário não está presente. É possível que o forame esteja confluindo com o forame oculomotor, o que seria uma característica pós-metamórfica pouco usual (Sokol, 1977); porém; outras

técnicas, como a de coloração de nervos, deveriam ser utilizadas para a confirmação desta característica.

Em *Pipa carvalhoi* as cartilagens orbitais são mais baixas anteriormente sendo confluentes com a lâmina *cerebronasales*, que é baixa nesta espécie. As cartilagens orbitais vão se tornando mais elevadas posteriormente e confluem com a *taeniae tecti marginales* (SOKOL, 1977; obs. pessoal). Em *Hymenochirus* a redução anterior das cartilagens orbitais é ainda maior que a observada em *Pipa carvalhoi* (SOKOL, 1977). Já no gênero *Xenopus* (incluso *Silurana*) Sokol (1977) observa que as cartilagens orbitais são completas como em *Pipa arrabali*, não se reduzindo anteriormente.

Os forames da cápsula ótica de *Pipa arrabali* são similares aos de *P. carvalhoi* e *P. pipa* (PATERSON, 1960; SOKOL, 1977; obs. pessoal). Já em *Xenopus laevis* (SEDRA; MICHAEL, 1957; PATERSON, 1960), *Silurana tropicalis* (SOKOL, 1977), *Hymenochyrus boettgeri* (SOKOL, 1977) e *Hymenochyrus curtipes* (PATERSON, 1960) são encontrados dois forames acústicos.

A presença de apenas um forame perilinfático em *Pipa arrabali* é uma característica particular observada para a família Pipidae (PATERSON, 1960; SOKOL, 1977; HAAS, 2003 caráter 97 – estado 0), inclusive nos Pipidae fósseis (BÁEZ; PUGENER, 2003). Nos gêneros *Xenopus* e *Silurana* apenas está presente o forame perilinfático inferior (PATERSON 1960; SEDRA; MICHAEL, 1957; SOKOL, 1977) e no gênero *Pipa* apenas está presente o forame perilinfático superior (PATERSON, 1960; SOKOL, 1977). Em *Hymenochirus*, além do forame perilinfático superior, também está presente um forame perilinfático acessório (PATERSON, 1960; SOKOL, 1977).

A comissura *quadratocranialis* em *Pipa carvalhoi* (SOKOL, 1977; obs. pessoal), em *Xenopus laevis* (SEDRA; MICHAEL, 1957; TRUEB; HANKEN, 1992; obs. pessoal) e em *Silurana tropicalis* (SOKOL, 1977) é larga e tem uma sutura longitudinal peculiar que possivelmente marca a fronteira entre o palatoquadrado e o neurocrânio (SOKOL, 1977), contrapondo-se ao que foi observado em *P. arrabali*.

Em *Pipa carvalhoi* o *ligamentum tectum* é parcialmente condrificado (SOKOL, 1977) como em muitos outros girinos (SOKOL,1975). Em *Xenopus laevis* (SEDRA; MICHAEL, 1957) e em *Silurana tropicalis* (SOKOL, 1977) é ligamentoso. Porém, a existência em *P. arrabali* de um tecido possivelmente conjuntivo no local deste

ligamento poderia ser mais um estado diferente deste caráter, além dos estados ligamentoso e condrificado já considerados em outros estudos (e.g. HAAS, 2003 – caráter 78). Outra hipótese possível seria que o *ligamentum tectum* formado por tecido conjuntivo poderia representar um estágio de desenvolvimento mais avançado do caráter, onde o ligamento já poderia estar regredindo ou se reorganizando. Isto corroboraria com os inúmeros indícios heterocrônicos encontrados na espécie.

Em *Pipa carvalhoi* (SOKOL, 1977; obs. pessoal) e em *Xenopus laevis* (SEDRA; MICHAEL, 1957; SOKOL, 1977; obs. pessoal) o processo muscular é anterior à fenestra subocular. O fato de em *P. arrabali* o processo muscular ser mais posterior provavelmente se deve ao encurtamento da porção anterior do crânio. Ou por uma possível aceleração no desenvolvimento (*sensu* ALBERCH et al., 1979) dessa região, sendo que o processo muscular já estaria em uma posição onde nos demais anfíbios ele só ocupa em fases mais avançadas de desenvolvimento (e.g. DE JONGH, 1968; PUSEY, 1943).

Pugener et al. (2003) utilizam como caráter o ângulo da cartilagem subocular em relação à capsula ótica (caráter 21) e atribuem aos pipídeos analisados (*P. parva*, *P. carvalhoi*, *Xenopus laevis*, *X. muelleri* e *Silurana tropicalis*) o estado 1, que se refere a cartilagem subocular formar um ângulo obtuso em relação à cápsula ótica. Em *Pipa arrabali* o que se observa é que a cartilagem subocular forma um ângulo agudo com a cápsula ótica. Isto provavelmente também se deve ao palatoquadrado e a porção etmoidal serem extremamente reduzidos em *P. arrabali*.

A placa ótica que é uma característica comum em Pipidae (SOKOL, 1977; TRUEB; HANKEN, 1992) existe em *Pipa arrabali*, porém é muito reduzida quando comparada com as encontradas nas outras espécies da família. Outra redução de cartilagens do palatoquadrado em *P. arrabali* associa-se a ausência do processo ventrolateral do palatoquadrado. Esse processo, que se desenvolve, em outro pipideos, em estágios mais avançados. Sua ausência em P. arrabai diminui a generalidade desta característica para a família (exeto *Hymenochirus*) como assumido por SOKOL, 1977; PUGENER et al., 2003 – caráter 23, estado 1; HAAS, 2003 – caráter 81, estado 3).

O suspensório do palatoquadrado apresenta muita variação dentre os girinos dos diferentes táxons (SOKOL, 1975). Sokol (1975) indica que em Xenoanura (designado por ele como girinos do Tipo I) o suspensório é muito peculiar, sendo

definitivamente alto, porém com algumas particularidades como um processo ótico larval muito desenvolvido. Para *Pipa carvalhoi* Sokol (1977) descreve que o aparelho suspensório do palatoquadrado é derivado do tipo “alto”. Nesta espécie o processo ascendente se fusiona na borda dorsal da *pila antotica* e o processo ótico larval, que é relativamente grande, se fusiona à crista parótica. O suspensório de *P. arrabali* se assemelha bastante com as observações feitas por Sokol (1975; 1977) para *Pipa* e *xenoanuros* de um modo geral.

Sokol (1977) observa que o processo muscular da cápsula ótica em *Pipa carvalhoi* serve como ponto de fixação para o músculo *constrictor arcuum branchialium*. Porém, como o processo muscular da cápsula ótica não ocorre em *P. arrabali*, seria interessante verificar com outras técnicas se este músculo existe nessa espécie e onde ele estaria inserido.

Grande parte das evidências discutidas acima parece indicar que *Pipa arrabali* apresenta uma redução acentuada das cartilagens do condrocrânio larval em estágio de pré-ossificação. Essas deleções podem representar adaptações à vida aquática dos adultos, quando comparada aos demais anfíbios não-pipídeos, e adaptações ao modo de desenvolvimento direto, quando comparada aos demais pipídeos.

O modo de desenvolvimento de *P. arrabali* pode estar relacionado a eliminação de caracteres juvenis e rápido aparecimento de características comuns em adultos (peramorfose *sensu* ALBERCH et al., 1979). Os indícios de peramorfose encontrados pode se dever principalmente a processos de aceleração do desenvolvimento das cartilagens. Isso pode, por sua vez estar associado ao processo de condensação ontogenetica dos anuros que extinguiram a fase de girino, com consequente abreviação do desenvolvimento, como sugerido por Callery e Elison (2000). Downie et al. (2004) predizem uma correlação positiva entre duração da metamorfose e tamanho do girino. Logo a aceleração do processo ontogenético proporcionaria um embrião menor, como é o caso de *P. arrabali*, o que pode estar associado às condições de restrição de espaço encontradas no dorso da mãe.

As cartilagens de Mekel em formato de “U” se assemelhando ao formato da mandíbula dos adultos observado em *P. arrabali*, também pode ser observado em larvas de salamandras e nas larvas estudadas de xenoanuros e é diferente da

mandíbula da maioria dos girinos (SEDRA; MICHAEL, 1957; SOKOL, 1977; TRUEB; HANKEN, 1992; YEH, 2000; HAAS, 2003 – caráter 93, estado 0).

A observação de infrarostrais distintos em *Pipa arrabali* é inédita para o gênero. Parker (1876 p. 651) afirma que no exemplar observado de *P. pipa* essas cartilagens não estão presentes. Trueb et al. (2000) também não observaram infrarostrais em *P. pipa*. Já Sokol (1977) sugere que em *P. carvalhoi* existe um infrarostral fibroso. Nos gêneros *Xenopus* e *Silurana* existe um infrarostral único separado das cartilagens de Meckel (SEDRA; MICHAEL, 1957; TRUEB; HANKEN, 1992; SOKOL, 1977). Em *Hymenochirus* (DE SÁ; SWART, 1999) e em *Rhinophrynus* (SWART; DE SÁ, 1999) o arco mandidular é formado por uma única peça, não havendo separação entre os infrarostrais nem separação entre esses e as cartilagens de Meckel. Essas características (infrarostral único e arco mandibular formado por uma peça única) não são compartilhadas por mais nenhum gênero de anfíbio (PUGENER et al., 2003, HAAS 2003).

Devido à posição de *P. arrabali* na filogenia dos Xenoanura (Figura 1.1.) a presença de infrarostral nesta espécie representa um problema no estabelecimento de homologia entre esta estrutura e aquela presente no girino da maioria dos outros anuros. Uma possível interpretação é de que não sejam homologas. Neste caso o ancestral dos Pipidae teria então perdido as suprarostrais e uma estrutura semelhante (mas não homologa) teria surgido em *P. arrabali*. Um exemplo semelhante é de *Gastrotheca guentheri,* este hilídeo apresenta dentes na mandíbula, uma característica que foi perdida no ancestral dos anuros (DUELLMAN, 1983). A ausência do osso mentomeckeliano em Xenoanura, que nos demais anuros surge a partir da ossificação da porção medial dos infrarostrais (TRUEB, 1993), corrobora essa hipótese.

4.3. **Descrição do aparelho hiobranquial dos espécimes 35000 e 35008 (A, B e C)**

Sokol (1975) sugeriu que os girinos do gênero *Pipa* não tinham cópula II e que o arco hióideo era unido às cestas branquiais somente pelo processo postero-medial dos ceratoiais. O que realmente ocorre nas espécies *P. carvalhoi* (SOKOL, 1977; obs. pessoal), *P. parva* (SOKOL, 1977, obs. pessoal) e em *P. pipa* (PARKER, 1876), porém observamos que em *P. arrabali* existe cópula II. Ridewood (1897) observou em *P. pipa* uma ligação entre os ceratobranquiais e as placas hipobranquiais. Nos desenhos e descrições de Ridewood (1897, p. 104 e prancha 11

- figuras 3, 4 e 5), a estrutura que seria homóloga à cópula II é apresentada como uma lâmina larga enquanto em *P. arrabali* observamos uma estrutura com formato diferente: delgada e alongada.

Sokol (1975) afirma que *Xenopus* é o único gênero em que o girino não apresenta cópula I. Entretanto, Pugener et al. (2003 – caráter 35) afirmam que esse elemento está ausente também em *Ascaphus truei*, *Hypsiboas lanciformis*, *Leptodactylus fuscus*, *Pelodytes punctatus*, *Pipa carvalhoi*, *P. parva*, *Pyxicephalus adspersus*, *Silurana tropicalis*, *Spea bombifrons*, *Xenopus laevis e X. muelleri*. Todavia, segundo esses autores, é encontrado em discoglosídeos, *Hymenochirus boettgeri*, *Pelobates cultripes*, *P. fuscus* e *Rhinophrynus dorsalis.* Por conseguinte, a ausência da cópula I em *P. arrabali* concordaria com as observações de Pugener et al. (2003) para o gênero *Pipa*.

A *pars reuniens* em *Pipa arrabali* é peculiar por não ser uma peça separada dos ceratoiais e por ter o formato de calha ao invés de ser cilíndrica como na maioria dos girinos de Pipidae e anuros em geral (SOKOL, 1975). Parker (1876) também observou em *P. pipa* que a união dos ceratohiais era peculiar e diferente de *Xenopus laevis*, não sendo uma peça basal medial separada.

Assim como em *Pipa arrabali*, o processo urobranquial também está ausente nos demais Pipidae (RIDEWOOD, 1897; SEDRA; MICHAEL, 1957; SOKOL, 1975;1977).

Em *Pipa pipa* os ceratobranquiais também são muito delgados e sem filamentos branchiais (PARKER, 1876). Wassersung (1973) mostra que a estrutura das cestas branquiais tende a refletir a ecologia das diferentes espécies. Logo *Pipa arrabali*, bem como *P. pipa* (PARKER, 1976), provavelmente apresentem cestos branquiais sem filamentos nem raios cartilaginosos por ter desenvolvimento direto.

Sokol (1975) observa que em *Xenopus* as espículas são reduzidas e em *Pipa* elas não existem. Pugener et al. (2003 - caráter 37) constata que não existem espículas hiobranquiais em *Ascaphus truei* e nem em todos os *Xenoanura* analisados (*Hymenochirus boettgeri*, *Pipa carvalhoi*, *P. parva*, *Rhinophrynus dorsalis, Silurana tropicalis*, *Xenopus laevis e X. muelleri*) como observado no presente estudo em *P. arrabali*.

Pugener et al. (2003 - caráter 38) afirmam que os Xenoanura analisados (*Pipa carvalhoi*, *P. parva*, *Rhinophrynus dorsalis, Silurana tropicalis*, *Xenopus laevis e X. muelleri*), exceto *Hymenochirus boettgeri*, têm ceratobranquiais complexos; porém, em *P. arrabali* os ceratobranchiais são simples, o que, mais uma vez, pode estar refletindo o modo de desenvolvimento direto da espécie.

4.4. Desenvolvimento do aparelho plectroral

Em geral, nos anuros o opérculo se desenvolve primeiro e em salamandras a *pars media plectri* é que se desenvolve primeiro (KINGBURY; REED 1908). Porém, em Pipidae existem algumas exceções, como em *Pipa pipa* (TRUEB et al., 2000) onde a primeira parte do aparato plectoral a se condrificar é a *pars media plectri*. Sokol (1977) observou em *Pipa carvalhoi* uma membrana parcialmente condrificada na fenestra oval, e inferiu que provavelmente seria a *pars media plectri*. Em *Xenopus laevis* (TRUEB; HANKEN, 1992) foi observado o aparecimento abrupto, no estágio 62, do começo do anel timpânico, da *pars externa plectri* e da *pars media plectri*. O surgimento da *pars interna plectri* só foi observado posteriormente, no estágio 66. Trueb e Hanken (1992) apenas encontraram opérculo nos indivíduos jovens, 1-2 meses após a metamorfose. Porém, Paterson (1939) e Sedra e Michael (1957) apontam o surgimento do opérculo em *Xenopuls laevis* no final da metamorfose.

Sendo assim, o desenvolvimento do aparelho plectoral de *P. arrabali* é único dentre os anuros, pipídios e não-pipídios, já descritos (e.g. DE JONGH, 1968; DE SÁ, 1988; FABREZI; GOLDBERG, 2009) por apresentar primeiramente o surgimento da *pars interna plectri*.

4.5. Desenvolvimento das cartilagens nasais

Os dados morfológicos das cartilagens nasais apresentados por Roček e Veselý (1989) para o gênero *Pipa,* de um modo geral, são muito semelhantes aos aqui apresentados para *Pipa arrabali*. Quando estes autores apresentam estados diferentes para *P. carvalhoi* e *P. pipa*, as características descritas para *P. pipa* são as que mais se assemelham ao que foi observado em *P. arrabali*.

Em *Pipa carvalhoi* (PATERSON, 1951, 1955) e *Hymenochirus curtipes* (PATERSON 1945) a cartilagem oblíqua é representada por uma vareta cartilaginosa delgada como visto em *P. arrabali*. *Xenopus laevis* é o único Pipidae analisado por Jurgens (1971) em que a cartilagem oblíqua e o *planum terminale* se arranjam num padrão comum a outros anuros (como ranídeos). Em *Hymenochirus* não existe um *planum terminale* (PATERSON, 1945, 1955; ROČEK; VESELÝ, 1989).

Em *Xenopus* a *lamina inferior cristae intermediae* é bem desenvolvida (PATERSON, 1939; SEDRA; MICHAEL, 1957) e é inexistente em *Hymenochirus* (PATERSON, 1945; ROČEK; VESELÝ, 1989). Já em *Pipa pipa* (ROČEK; VESELÝ, 1989) e *P. carvalhoi* (PATERSON, 1955) a *lamina inferior cristae intermediae* é uma barra delgada de cartilagem, semelhante ao que foi observado em *P. arrabali* no presente estudo.

O *solum nasi* dos pipídeos já foi considerado excepcionalmente incompleto (HIGGINS, 1920; PATERSON, 1939, 1945, 1951, 1955; JURGENS, 1971) quando comparado ao de outros anuros. *Pipa arrabali* não é exceção. Entretanto, existe alguma controvérsia quanto ao grau de completude dessa região. Por exemplo, Trueb e Cannatella (1982) apenas consideraram incompleto o estado encontrado em *Hymenochirus curtipes*. Todavia, observa-se que em *H. curtipes* ocorre o estado mais extremo deste caráter dentre os pipídeos já descritos, o que, contudo, não indica que o *solum nasi* dos demais Pipidae seja completo. Comparando-se o *solum nasi* de *P. arrabali* ao dos demais anfíbios não-pipidae (e.g. JURJENS, 1971; VILLIERS, 1931) percebemos claramente que essa estrutura é bastante incompleta nesta espécie.

Em *Xenopus* (PATERSON, 1939; SEDRA; MICHAEL, 1957) e *Hymenochirus* (PATERSON, 1945; ROČEK; VESELÝ, 1989) a cartilagem alar é vertical. Porém, em *Pipa pipa* (PARKER 1876; ROČEK; VESELÝ, 1989) e *P. carvalhoi* (PATERSON, 1955) esta cartilagem é horizontal como observado em *P. arrabali*. Jurgens (1971) inferiu que a virtual ausência do *tectum nasi* era o que determinava a grande independência da cartilagem alar observada nos Pipidae. As observações desta região para *P. arrabali* corroboram está hipótese.

Xenopus laevis (PATERSON, 1939; SEDRA; MICHAEL, 1957), *Hymenochirus curtipes* (PATERSON, 1945; JURGENS, 1971), *Pipa carvalhoi* (PATERSON, 1951, 1955; JURGENS, 1971) e *P. pipa* (PARKER, 1896; ROČEK; VESELÝ, 1989; TRUEB et al., 2000) também apresentam apenas uma cartilagem *praenasalis*, assim como *P. arrabali*. Porém, desde os primeiros estudos desta cartilagem em Pipidae existem conflitos entre as homologias adotadas pelos pesquisadores, ou seja, não se estabeleceu uma hipótese de homologia consensual que inferisse que esta cartilagem única é a cartilagem *praenasalis* superior, a cartilagem *praenasalis* inferior ou ainda se é uma cartilagem *praenasalis communis*.

Paterson (1939) descreve que em *Xenopus laevis* um arco cartilaginoso curva-se da cartilagem alar na região antero-ventral das cápsulas nasais e se fusiona ao *solun nasi*. A partir dessas observações levanta duas hipóteses: Poderia ser somente a cartilagem *praenasalis* superior, estando a cartilagem *praenasalis* inferior ausente. Ou poderia ser a cartilagem *praenasalis* superior fusionada à cartilagem *praenasalis* inferior. Em suas primeiras figuras Paterson indica esta estrutura como sendo a cartilagem *praenasalis* superior (1939) e depois em seu trabalho de 1951 indica hora como sendo a cartilagem *praenasalis* superior hora como sendo a cartilagem *praenasalis* inferior, porém pode ter ocorrido algum engano de diagramação (como observado por SEDRA E MICHAEL, 1957). Outra possibilidade seria que em 1951, Paterson passa a considerar que a espécie *Xenopus laevis* tem ambas as cartilagens *praenasalis* inferior e superior. Trueb e Cannatella (1992) descrevem que tanto *Xenopus laevis* como *Rhinophrynus dorsalis* apresentam ambas as cartilagens *praenasalis* inferior e superior e essas são fusionadas distalmente.

Jurgens (1971) achou mais plausível a hipótese de fusão da cartilagem *praenasalis* inferior e superior e propôs denominá-la de cartilagem *praenasalis communis*. Nomeclatura que também foi adotada por Roček e Veselý (1989) para *Pipa pipa*. Porém, Trueb et al. (2000) observam que em *Pipa pipa* existe um processo que parte da cartilagem alar e entra em contato com o processo alar da pré-maxila e inferem que este processo poderia ser homologo à cartilagem *praenasalis* superior.

Segundo Paterson (1939, 1951, 1955), em *Hymenochirus curtipes* e *Pipa carvalhoi* a cartilagem *praenasalis* inferior está ausente, mas a superior está presente e em *Pipa carvalhoi* é de comprimento moderado enquanto em *Hymenochirus curtipes* é muito curta. Jurgens (1971) infere que a existência de apenas uma cartilagem *praenasalis* nestas espécies pode ser devida à virtual ausência do *solum nasi.*

Nos demais anuros, em geral, a cartilagem *praenasalis* superior parte da cartilagem alar e se encosta distalmente à região dorso-posterior do processo alar da pré-maxila, enquanto a cartilagem *prenasalis* inferior se liga ao *solum nasi* e se encosta distalmente à região ventro-posterior do processo alar da pré-maxila (e.g. DE JONGH, 1968; JURGENS, 1971; PUGENER; MAGLIA, 2007). Logo, com base na homologia primária (*sensu* DE PINNA, 1991), constata-se que realmente em *P. arrabali* está presente a cartilagem *praenasalis* superior.

A ausência da crista *subnasalis* em *Pipa arrabali* concorda com as descrições dos demais pipídeos (e.g. HIGGINS, 1920; PATERSON, 1939, 1945, 1951, 1955; JURGENS, 1971).

A diferença mais marcante entre o desenvolvimento de *Pipa pipa* e *P. arrabali* está no aparecimento da cartilagem obliqua e da *lamina inferior cristae intermediae.* Em *Pipa pipa* (PARKER, 1876; ROČEK; VESELÝ, 1989) ocorre a formação e desenvolvimento da cartilagem oblíqua antes do aparecimento da *lamina inferior cristae intermediae* e em *P. arrabali* foi observado o contrário. Já em *Xenopus laevis*, primeiro se condrifica a *lamina inferior cristae intermediae* e só depois a cartilagem oblíqua se condrifica, concordando com a sequência de desenvolvimento destas cartilagens em *P. arrabali*. Esses dados mostram a independência do processo de formação desses elementos.

Em *Pipa pipa* (ROČEK; VESELÝ, 1989) não é descrita a fusão da cartilagem oblíqua nem da *lamina inferior cristae intermediae* ao processo maxilar anterior*,* como ocorre em *P. arrabali*. A posterior fusão dessas duas laminas de cartilagem ao processo maxilar lateral é descrita em *P. pipa* (ROČEK; VESELÝ, 1989), porém, este processo não é nomeado. Não existe registro conhecido da nomeclatura deste processo, e assim propusemos o nome “processo maxilar lateral” por partir

lateralmente do *planum triangulare* e este *planum* já portar anteriormente um processo denominado de maxilar anterior e outro posteriormente denominado de processo maxilar posterior.

Existem também diferenças no tempo de desenvolvimento das cartilagens nasais em relação ao tempo de desenvolvimento do restante do condrocrânio das espécies *Pipa pipa* (ROČEK; VESELÝ, 1989) e *P. arrabali.* Na primeira espécie o processo muscular não está formado quando começam a aparecer as primeiras cartilagens do esqueleto na fase adulta, sendo que quando o processo muscular pode ser observado bem condrificado já existem o *septum nasi* e a cartilagem oblíqua. Isto indica um "post-displacement" (*sensu* ALBERCH et al., 1979) no desenvolvimento de *P. arrabali* em relação a *P. pipa.*

Quando o desenvolvimento dos elementos nasais de *Xenopus laevis* (SEDRA; MICHAEL, 1957) é comparado ao de *P. arrabali* percebe-se que nesta última espécie o desenvolvimento das cápsulas nasais é relativamente acelerado, sendo que, por exemplo, em *Xenopus laevis* o aparecimento da cartilagem oblíqua e sua fusão com a *lamina inferior cristae intermediae* ocorre no mesmo estágio em que aparece o osso septo-maxila. Em *P. carvalhoi* (obs. pessoal) quando o septo-maxila surge as cartilagens nasais também já estão bem formadas. Porém, o desenvolvimento das cápsulas nasais de *Pipa arrabali* também é mais adiantado do que o de *P. carvalhoi* (obs. pessoal). Esta aceleração é evidenciada, por exemplo, pela erosão tardia da placa suprarostral em *P. carvalhoi*, que ainda está totalmente presente concomitantemente, por exemplo, com o septo maxila, cartilagem oblíqua e *lamina inferior cristae intermediae*.

As diferenças na sequência de aparecimento de elementos cartilaginosos do condrocrânio adulto de *P. pipa* em relação a *P. carvalhoi* e *Xenopus laevis* já foram observadas e discutidas por Roček e Veselý (1989 p. 318), que demonstram que o desenvolvimento das cartilagens nasais em *P. pipa* ocorre mais cedo do que em *P. carvalhoi* e *Xenopus laevis.* Esses autores argumentam que as diferenças observadas poderiam estar relacionadas ao fato de *P. pipa* apresentar desenvolvimento direto, sem ocorrer uma fase de girino livre-natante. A aceleração no desenvolvimento das cartilagens nasais de *P. arrabali* em relação a *P. carvalhoi* e a *X. laevis* e a maior semelhança entre o desenvolvimento de *P. arrabali* e *P. pipa*

reafirma a hipótese de que haja uma aceleração ontogenética no desenvolvimento das cartilagens nasais nas espécies com desenvolvimento direto.

Constatamos também, com base na análise comparada entre o desenvolvimento das cartilagens nasais, placa suprarostral e do osso septo-maxila, que existe evidência de uma aceleração crescente no desenvolvimento das cápsulas nasais no seguinte sentido: *Xenopus laevis*, *Pipa carvalhoi*, *P. arrabali* e *P. pipa*. Quando esses dados são plotados na filogenia da família, utilizando-se para tal a filogenia mais recente (FROST et al., 2006), observa-se uma aceleração crescente na direção dos táxons mais derivados, sendo a aceleração no desenvolvimento destas um estado apomórfico que apresenta seu grau máximo em *P. pipa*.

4.6. **Desenvolvimento da mandíbula**

O desenvolvimento da mandíbula de *Pipa arrabali*, de um modo geral, é semelhante ao que já foi descrito para espécies do mesmo gênero (PARKER, 1876; TRUEB et al., 2000; obs. pessoal) e família (SEDRA; MICHAEL, 1957; TRUEB; HANKEN, 1992; obs. pessoal).

Ver discussão em relação à ossificação da mandíbula no final do item 4.8.1.

4.7. **Ontogenia do aparelho hiobranquial**

O desenvolvimento do aparelho hiobranquial em *Pipa arrabali* parece apresentar “pre-displacement” e aceleração (*sensu* ALBERCH et al.,1979). Na maioria dos anfíbios já estudados, a substituição das estruturas do aparelho hiobranquial das larvas pelas estruturas do aparelho hiobranquial dos adultos só ocorre ao fim da metamorfose [e.g., *P. carvalhoi* (obs. pessoal), *Xenopus laevis* (RIDEWOOD, 1897, SEDRA; MICHAEL, 1957), *Rana temporaria* (DE JONGH, 1968) e *Pelobates* (ROČEK, 1981)]. Já em *Pipa arrabali*, observamos que esta substituição é muito mais prematura, talvez como resultado do desenvolvimento direto. A aceleração no desenvolvimento do hiobranquial também já foi observada em outros anuros de desenvolvimento direto como o *Eleutherodactylus nubicola* (LYNN, 1942).

Existem divergências entre as publicações disponíveis sobre o desenvolvimento do aparelho hiobranquial de *Pipa pipa* (PARKER, 1876; RIDEWOOD, 1897). O estudo realizado por Ridewood (1897) possui resultados que

mais se assemelham com os encontrado para *P. arrabali*; contudo existem diferenças marcantes que os distinguem. Ridewood (1897) observa que em *Pipa pipa* os primeiros elementos do aparelho hiobranquial larval que começam a se erodir são as comissuras terminais (primeiro a I, depois a II e só então a III) e que os ceratobranquiais são erodidos primeiramente na porção distal, progressivamente até a porção proximal. Todavia, em *P. arrabali* a porção medial dos ceratobranquiais se rompe antes mesmo das comissuras terminais serem erodidas. Em *Xenopus laevis* (SEDRA; MICHAEL, 1957) os ceratobranquiais começam a ser erodidos antes que as comissuras terminais se rompam.

A transição do aparelho hiobranquial larval para o aparelho hiobranquial adulto não pôde ser observada totalmente por não existir estágios intermediários entre os embriões 35045 e 35019 (clímax dessa transição). Porém indícios encontrados nesses indivíduos possibilitaram a elaboração da hipótese de homologia proposta para as estruturas do aparelho hiobranquial larval remanescentes no aparelho hiobranquial dos adultos (Figura 4.7.1.).

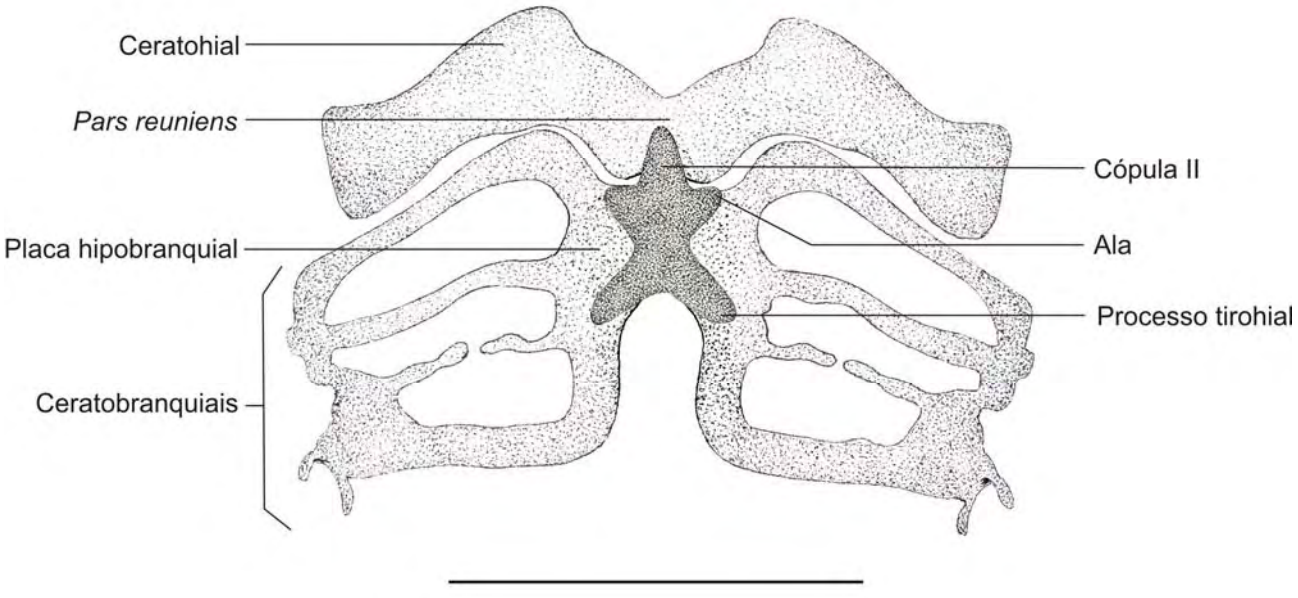


Figura 4.7.1. Sobreposição dos aparelhos hiobranquiais do embrião 35019 – A (CRC: 7,18 mm) (mais escuro) e 35045 – C (CRC: 5,47 mm) (mais claro), ilustrando como um estágio de desenvolvimento pode ter derivado do outro e quais regiões semantêm após o processo de metamorfose, a partir das homologias propostas. Ambos na mesma escala, sendo a barra correspondente a 1mm.

Parker (1976) descreve que em *Pipa pipa* a ala do esqueleto hiobranquial do adulto é formada a partir da fusão dos ceratobranquiais I e II. Já Ridewood (1897) infere que a formação da ala se dá a partir da borda anterior da placa hipobranquial (como na hipótese formulada para *P. arrabali* no presente estudo), acima da fenestra deixada pelo alargamento do forame tireóideo no processo de reabsorção das cartilagens larvais. Em *Xenopus laevis* (SEDRA; MICHAEL, 1957) a ala surge como uma cartilagem inteiramente nova a partir da lateral da cópula II e da placa hipobranquial.

Parker (1876) indica que em *Pipa pipa* a formação dos tirohiais se dá pela fusão dos ceratobranquiais III e IV. No entanto, Ridewood (1897) acreditava que em *Pipa pipa* os tirohiais são formados por adição de cartilagem na borda posterior da placa hipobranquial, semelhante ao que foi suposto para *P. arrabali* no presente estudo, apartir de análises do embrião 35045–C (último estágio de desenvolvimento onde aparecem todas as estruturas características do aparelho hiobranquial larval) que apresenta as bordas da placa hipobranquial dilatadas posteriormente (Figura 3.7.4.). Em *Xenopus laevis*, os tirohiais são independentes dos ceratobranquiais e surgem como processos que partem da região posterior das placas hipobranquiais e crescem acompanhando paralelamente os ceratobranquiais IV (RIDEWOOD 1897; SEDRA; MICHAEL, 1957).

Parker (1876) descreve que em *Pipa pipa* o forame hioglossal surge como uma perfuração da cópula II. Já Ridewood (1897) observou que em *P. pipa* o forame hioglossal é formado a partir do surgimento de uma cartilagem que interliga os processos anteriores dos ceratohiais. Porém, em *P. arrabali* nenhum desses padrões foram observados (presente estudo), sendo o forame hioglossal nessa espécie formado de um modo ainda não descrito em estudos anteriores (RIDEWOOD, 1897, 1898; PARKER, 1876; ROČEK, 2003).

Os ceratoiais são totalmente erodidos em *Pipa carvalhoi* (PATERSON, 1955; obs. pessoal) e *P. pipa* (PARKER, 1876; RIDEWOOD, 1897), assim como observado em *P. arrabali* no presente estudo.

As espécies de *Pipa* apresentam formato do aparelho hiobranquial do adulto muito semelhante (PARKER, 1876; RIDEWOOD, 1897; CANNATELLA; TRUEB,

1988; TRUEB, 1996). Assim, as evidências aqui apresentadas e outras descritas na literatura (PARKER, 1876; PATERSON, 1955; RIDEWOOD, 1897) sugerem que diferentes rotas ontogenéticas podem gerar esqueletos adultos bastante semelhantes. Isso pode indicar que exista não só uma independência entre as estruturas adultas e larvais (programas genéticos distintos), como também uma independência entre os processos de desenvolvimento. Isso sugere que as discussões sobre ontogenia como base para determinação de homologia entre estruturas adultas deve ser utilizada mais cuidadosamente. Muito provavelmente o processo evolutivo pode alterar a forma larval, o processo ontogenético e a forma adulta de forma independente.

4.8. Ontogenia dos ossos cranianos

4.8.1. Sequência de aparecimento dos ossos

Além dos problemas na estipulação de estágios para a espécie *Pipa arrabali* (já discutidos no começo do item 4.1.) existe a problemática encontrada na maioria dos estudos ontogenéticos comparativos (ver discussão em JEFFERY et al., 2002) em se estabelecer estágios etários adequados para que se façam análises comparativas com semaforontes verdadeiros. Associado a isso ainda existem dificuldades em se comparar trabalhos em que exista uma diferença acentuada no número amostral de indivíduos e no número de estágios de desenvolvimento considerados. A carência em número de estágios disponíveis e de indivíduos por estágios geralmente afetam os resultados das sequências de ossificação (TRUEB, 1985;TRUEB; HANKEN, 1992).

Em *Pipa arrabali* os ossos cranianos, como um todo, sofrem “post-displacement” (*sensu* ALBERCH et al., 1979), e surgem somente após os membros anteriores e posteriores do embrião já se apresentarem desenvolvidos.

A sequência de ossificação de *Pipa pipa* descrita por Trueb et al. (2000) é bastante semelhante a aqui apresenta para *P. arrabali* (Tabela 4.8.1.1.), porém na descrição apresentada para *P. pipa* muitos ossos surgem ao mesmo tempos, o que em *P. arrabali* só foi registrado no quarto evento de ossificação. Ou seja, em *P. arrabali* apenas os ossos maxila e pré-maxila surgem ao mesmo tempo (no quarto evento de ossificação) já em *P. pipa* Trueb et al. (2000) observaram em vários

eventos de ossificação o surgimento de mais de um osso ao mesmo tempo, no mesmo evento, como por exemplo no primeiro evento de ossificação já surgem concomitantemente o parasfenóide e o frontoparietal, no segundo evento surgem o ângulo esplenial médio e a maxila, com o máximo de ossos surgindo ao mesmo tempo no terceiro evento de ossificação, onde é observado o surgimento de cinco ossos ao mesmo tempo (pré-maxila, nasal, dentário, exoccipital e proótico). Por esta razão, *P. pipa* apresenta um número menor de eventos de ossificação que *P. arrabali*. Porém, é necessário ressaltar que Trueb et al. (2000) analisaram 24 espécimes de *P. pipa*, enquanto o presente estudo analisou 57 espécimes de *P. arrabali*, de forma que o maior número de indivíduos, com estágios diferentes, pode ter possibilitado a identificação mais individualizada do surgimento de cada osso, o que acabaria naturalmente aumentando o número de eventos de ossificação. Quando só estão disponíveis poucos estágios de desenvolvimento, cada espécime analisado já possui várias diferenças em relação à fase anterior o que impossibilita a reconstrução exata da ordem em que essas diferenciações foram acontecendo. Sendo assim, os eventos de ossificação, que marcam o início do aparecimento de cada osso, podem aumentar quando se observa mais indivíduos em estágios de desenvolvimento intermediários, pois existe a possibilidade de se identificar com maior precisão a ordem de aparecimento de cada osso.

Tabela 4.8.1.1. Comparação das sequências de aparecimento dos ossos cranianos de espécies de *Pipa*. Os colchetes indicam quando os ossos apareceram concomitantemente, ou seja, no mesmo evento de ossificação.

Pipa arrabali (Presente estudo)	***Pipa pipa*** (TRUEB et al., 2000)	***Pipa carvalhoi*** (ARAÚJO; HADDAD, 2006)	***Pipa myersi*** (YEH, 2002)
Parasfenóide	Parasfenóide	Parasfenóide	Parasfenóide
Frontoparietal	Frontoparietal	Frontoparietal	Frontoparietal
Ângulo esplenial méd	Ângulo esplenial méd	Ângulo esplenial	Ângulo esplenial
Maxila	Maxila	Exoccipital	Exoccipital
Pré-maxila	Pré-maxila	Maxila	Maxila
Nasal	Nasal	Proótico	Proótico
Dentário	Dentário	Pré-maxila	Pré-maxila
Exoccipital	Exoccipital	Nasal	Nasal
Proótico	Proótico	Dentário	Dentário
Ângulo esplenial lat	Septo-maxila	Septo-maxila	Septo-maxila
Septo-maxila	Pterigóide	Pterigóide	Pterigóide
Pterigóide	Esfenetmóide		Esquamosal
Esquamosal	Esquamosal		Esfenetmóide
Columela	Anel tinpânico		

As sequências de ossificação craniana de *P. carvalhoi* e *P. myersi* são mais semelhantes entre si do que com as sequências de ossificação craniana de *P. arrabali* e *P. pipa* (Tabela 4.8.1.1.). Porém, é importante ressaltar que a análise da sequência ontogenética dos ossos cranianos de *P. myersi* não pôde ser feita desde os primeiros estágios de aparecimento dos ossos porque o espécime mais jovem analisado já apresentava quatro ossos presentes e estes foram agrupados como pertencentes ao primeiro evento de ossificação (YEH, 2002). Porém, como a própria autora sublinhou, estes ossos não devem ter surgido todos ao mesmo tempo. Ou seja, não foi possível identificar a ordem de surgimento dos ossos parasfenóide, frontoparietal, ângulo esplenial e exoccipital, pois esses ossos já estavam todos com princípio de ossificação no exemplar mais novo disponível para análise. Seria necessário analisar outros exemplares mais jovem para que houvesse a possibilidade de identificar o surgimento individualizado de cada um desses ossos.

Destaca-se que em *P. arrabali*, bem como em *P. pipa*, a ossificação do exocciptal e do proótico são mais tardias do que em *P. carvalhoi* e *P. myersi*. Sendo estes dois ossos parte importante da sustentação da caixa craniana, o desenvolvimento direto das espécies *P. arrabali* e *P. pipa* proporcionam a possibilidade desses elementos ficarem mais tempo sem ossificação. Todavia, quando existe uma larva livre-natante, é necessária uma maior estabilidade da caixa craniana, como é o caso das espécies *P. carvalhoi* e *P. myersi*. Outro aspecto importante a se destacar é a relação da ossificação destes dois ossos, que formam a parede posterior do crânio, com a velocidade da formação e ossificação da coluna vertebral. Sendo a coluna vertebral não funcional para a natação nas espécies com desenvolvimento direto, o desenvolvimento desses ossos pode ser retardado juntamente com o retardamento da formação da coluna vertebral. Podendo assim a coluna vertebral ter alguma ação iniciadora de formação desses ossos posteriores do crânio.

Trueb e Alberch (1985) indicam que o surgimento do conjunto dos ossos dérmicos e o conjunto dos ossos endocondrais são independentes. Posto que, em *P. arrabali* os ossos endrocondrais presentes são o proótico, o exocipital e a columela, observa-se que o conjunto dos ossos dérmicos se ossifica antes do conjunto de ossos endocondrais.

Uma das sinapomorfias de Anura é o atraso da ossificação da mandíbula (YEH, 2002). Nos xenoanuros esse atraso é revertido ao longo da evolução do grupo (MAGLIA et al., 2001; YEH, 2002). Em Xenoanura a mandíbula dos girinos já possui um formato muito parecido com a do adulto, sendo desnecessários grandes remodelamentos das cartilagens (YEH, 2002), o que propicia o começo antecipado da ossificação. Este “pre-displacetment” (*sensu* ALBERCH et al., 1979), ou seja, a antecipação do começo da ossificação dos ossos da mandíbula (principalmente do ângulo esplenial) é mais acentuada nos gêneros *Hymenochirus* e *Pipa* (Tabela 4.8.1.2.), sendo que nas espécies do gênero *Pipa* esta característica é mais extrema. Se fossemos analisar as sequências ontogenéticas de ossificação craniana do gênero *Pipa* (Tabela 4.8.1.1.), sem ponderações sobre os artefatos gerados pela diferença de número de espécimes analisados em cada estudo, chegaríamos à conclusão de que a mandíbula começa a se ossificar primeiro em *P. myersi* (primeiro evento de ossificação), depois em *P. pipa* e *P. carvalhoi* (no segundo evento de ossificação) e *P. arrabali* seria a espécie do gênero onde a ossificação da mandíbula seria mais tardia (no terceiro evento de ossificação). Todavia, essas comparações tão minuciosas só poderiam ser feitas se houvesse uma padronização de espécimes e estágios equivalentes analisados. Seria esperado que as espécies de desenvolvimento direto apresentassem maior aceleração no desenvolvimento da mandíbula (YEH, 2002; KERNEI et al., 2007; HANKEN et al., 1992). Contudo, pela falta de metodologia equivalente, entre os estudos realizados, esta tendência não pôde ser avaliada. Analisando outros anuros com desenvolvimento direto observamos que também existe esta antecipação de aparecimentos dos elementos ósseos da mandíbula (Tabela 4.8.1.3.). Entretanto, em *Eleutherodactylus coqui* (HANKEN et al., 1992) e *Eleutherodactylus nubicola* (TRUEB, 1985) esta antecipação é mais marcante que em *Pseudophilautus silus* (KERNEI et al., 2007) embora os três tenham desenvolvimento direto. Porém, esta diferença pode ser um artefato da técnica utilizada para determinar o aparecimento de cada osso separadamente e os eventos de ossificação. Podemos inferir, de um modo generalizado, que *P. arrabali* se assemelha mais ao padrão apresentado pela espécie *Pseudophilautus silus* do que o padrão apresentado pelos *Eleutherodactylus*.

Tabela 4.8.1.2. Comparação das sequências de aparecimento dos ossos cranianos de outras espécies de xenoanuros. Os colchetes indicam quando os ossos apareceram concomitantemente, ou seja, no mesmo evento de ossificação.

Xenopus laevis	***Xenopus borealis***	***Xenopus tropicalis***	***Hymenochirus boettgeri***	***Rhinophrynus dorsalis***
(TRUEB; HANKEN, 1992)	**(TRUEB, 1985)**	**(TRUEB, 1985)**	**(YEH, 2002)**	**(TRUEB, 1985)**
Frontoparietal	Frontoparietal	Frontoparietal	Frontoparietal	Parasfenóide
Parasfenóide	Parasfenóide	Parasfenóide	Exoccipital	Exoccipital
Exoccipital	Exoccipital	Exoccipital	Ângulo esplenial	Frontoparietal
Proótico	Proótico	Proótico	Parasfenóide	Maxila
Ângulo esplenial	Ângulo esplenial	Ângulo esplenial	Maxila	Proótico
Maxila	Maxila	Maxila	Nasal	Nasal
Pré-maxila	Pré-maxila	Pré-maxila	Dentário	Pré-maxila
Nasal	Septo-maxila	Septo-maxila	Pterigóide	Esfenetmóide
Dentário	Nasal	Nasal	Esquamosal	Ângulo esplenial
Septo-maxila			Pré-maxila	Dentário
Pterigóide			Esfenetmóide	Quadratojulgal
Esquamosal			Septo-maxila	Septo-maxila
Vômer			Proótico	Esquamosal
Esfenetmóide				Vômer
				Pterigóide

Tabela 4.8.1.3. Comparação das sequências de aparecimento dos ossos cranianos de espécies de não-pipídios que apresentam desenvolvimento direto. Os colchetes indicam quando os ossos apareceram concomitantemente, ou seja, no mesmo evento de ossificação.

Eleutherodactylus nubicola (TRUEB, 1985)	***Eleutherodactylus coqui*** (HANKEN et al., 1992)	***Pseudophilautus silus*** (KERNEI et al., 2007)
Parasfenóide	Ângulo Esplenial	Frontoparietal
Ângulo esplenial	Esquamosal	Parasfenóide
Esquamosal	Parasfenóide	Exoccipital
Exoccipital	Pré-maxila	Pré-maxila
Frontoparietal	Frontoparietal	Maxila
Pré-maxila	Exoccipital	Ângulo esplenial
Dentário	Maxila	Dentário
Maxila	Pterigóide	Esquamosal
Pterigóde	Dentário	Septo-maxila
Quadratojulgal	Septo-maxila	Proótico
	Quadratojulgal	Mentomeckeliano
	Proótico	Pterigóide
	Nasal	Nasal
	Vômer	Columela
		Vômer
		Quadratojulgal

4.8.2. Sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos

Poucos dados detalhados sobre o desenvolvimento dos ossos cranianos estão disponíveis na literatura (e.g. KEMP; HOYT, 1969; TRUEB et al, 2000), o que dificulta a análise dos padrões de formação destes ossos.

A ontogenia do osso frontoparietal pôde ser mais explorada que a dos demais ossos por existirem mais dados para o grupo dos xenoanuros (e.g. PARKER, 1876, DE SÁ; SWART, 1999; SWART; DE SÁ, 1999) que ajudam a elucidar alguns padrões de desenvolvimento. Um dos motivos que levaram muitos pesquisadores a dar especial atenção ao frontoparietal (e.g. GRIFFITHS, 1954; ROČEK, 1988) foi o questionamento sobre a existência de um osso único ou mais do que um que se fundem para formar o frontoparietal.

Pipa arrabali difere das demais espécies do gênero *Pipa* e demais xenoanuros quanto ao formato de centro de ossificação e ontogenia do osso frontoparietal. Na espécie *P. carvalhoi* ocorre inicialmente a formação de um centro de ossificação teniforme sobre o centro da fontanela frontoparietal (obs. pessoal). Posteriormente este centro de ossificação se expande do centro para as margens, recobrindo primeiramente a porção posterior da fontanela frontoparietal e só então recobre a porção anterior da fontanela (obs. pessoal). Já em *Pipa pipa* surgem dois centros de ossificação às margens da fenestra frontoparietal, na porção anterior(TRUEB et al., 2000). A ossificação progride principalmente em direção ao centro e em direção à porção posterior da fontanela. O frontoparietal em *P. pipa*, como em *P. arrabali*, sobrepõe os ossos nasais (TRUEB et al., 2000). Já Parker (1876 prancha 60, figura 2) observou cinco centros de ossificação em *P. pipa*. Este impasse entre a literatura disponível indica que estudos posteriores deveriam ser realizados para tentar sanar possíveis falhas nas técnicas utilizadas e erros de interpretação.

Em *Xenopus laevis* (SEDRA; MICHAEL, 1957; TRUEB; HANKEN, 1992; obs. pessoal), em *Hymenochirus boettgeri* (DE SÁ; SWART, 1999) e em *Rhinophrynus dorsalis* (SWART; DE SÁ, 1999), assim como em *Pipa pipa* (TRUEB et al., 2000) também surgem primeiramente dois centros de ossificação às margens da fenestra frontoparietal, porém em *Xenopus laevis* os centros de ossificação se localizam na porção posterior da fenestra frontoparietal. Em *Xenopus laevis* a ossificação progride principalmente em direção ao centro e em direção à porção anterior, preenchendo toda a fenestra frontoparietal e sobrepondo os ossos nasais (SEDRA; MICHAEL, 1957; TRUEB; HANKEN, 1992; obs. pessoal).

Detecta-se um padrão no modo de desenvolvimento do frontoparietal, onde os gêneros *Rhinophrynus*, *Hymenochirus* e *Xenopus* apresentam um estado plesiomórfico e o gênero *Pipa* apresenta um estado apomorfico. Para o melhor entendimento da evolução deste caráter dentro do gênero *Pipa* seria necessária a análise da ontogenia craniana das demais larvas e embriões das espécies do gênero.

Com a análise detalhada das ontogenias de todos os demais xenoanuros, e dos anuros como um todo, possivelmente poderiam ser observados outros padrões

no surgimento de centros de ossificação dos diferentes ossos, o que contribuiria com o entendimento das próprias espécies e dos seus relacionamentos filogenéticos.

O único osso que não foi encontrado no presente estudo e que está presente nos adultos de *Pipa arrabali*, segundo Trueb e Cannatella (1986) é o esfenetmóide. Provavelmente este osso deve aparecer em indivíduos mais velhos do que os que tínhamos disponíveis para análise. Ou então, talvez nos espécimes disponíveis a visualização só fosse possível utilizando outras técnicas, como a microscopia, sendo o caso desse osso nos estágios disponíveis estar sobreposto de tal maneira que sua visualização apenas com a técnica de diafanização fique prejudicada.

Os demais ossos cranianos ausentes também não são encontrados nos adultos de *Pipa arrabali* (TRUEB; CANNATELLA, 1986), indicado uma possível progenese (*sensu* ALBERCH et al., 1979) craniana, sendo que estes ossos geralmente surgem no final da metamorfose ou pós-metamorfose (TRUEB, 1985), indicando que o fim do desenvolvimento craniano ocorre nestas espécies antes de ocorrer o aparecimento destes elementos.

4.9. Visão geral da ontogenia condrocraniana de *Pipa arrabali*

Segundo Etkin (1992), a metamorfose dos anuros pode ser dividida em: 1) Pró-metamorfose (período de crescimento das patas traseiras) e 2) Clímax metamórfico (período de reabsorção da cauda e modificações na boca). Em *P. arrabali* o clímax da metamorfose condrocraniana, ou seja, o momento onde ocorrem as maiores modificações no condrocrânio e as estruturas do crânio adulto estão em fase intensa de formação, coincide com o momento de clímax metamórfico externo considerando-se a absorção da cauda.

Em *Pipa pipa* o período de clímax metamórfico acontece quando os embriões têm entre 11,3 a 12,5 mm (TRUEB et al., 2000). A razão entre estas medidas e o CRC do adulto de P. pipa [média do CRC de machos e fêmeas =134 mm (TRUEB; CANNATELLA, 1986)] é 0,084 e 0,093, respectivamente. Sendo que se fizermos a mesma razão entre o CRC dos embriões no período de clímax metamórfico de *P. arrabali* (entre 7 e 9mm) e o CRC dos adultos [média do CRC de machos e fêmeas = 40,9 mm (TRUEB; CANNATELLA, 1986)] obtemos 0,171 e 0,220, respectivamentre.

Isso parece indicar que *P. arrabali* atinge seu clímax metamórfico em um estágio posterior ao clímax de *P. pipa*. Em *Xenopus laevis* o clímax da metamorfose ocorre entre os estágios 56 e 66 (estágios de NIEUWKOOP; FABER, 1956) e no estágio 66 o seu CRC equivale a 21 mm (TRUEB; HANKEN, 1992). Fazendo a mesma proporção anterior com o CRC do adulto [média do CRC de machos e fêmeas = 108 mm (KOBEL et al, 1996)] obtêm-se 0,194. Comparando-se com a proporção obtida para *P. arrabali*, verificamos que também é inferior à de *X. laevis*, porém não tanto quanto *P. pipa*. Indicando que possivelmente *P. arrabali* faz metamorfose em um estágio um pouco posterior ao de *X. laevis* (Figura 4.9.1.). Porém, estes valores podem não ter uma correlação direta com o tempo, podendo ser influenciados por diferenças nas taxas de desenvolvimento da espécie ou outros processos como hipermorfose ou progenia.

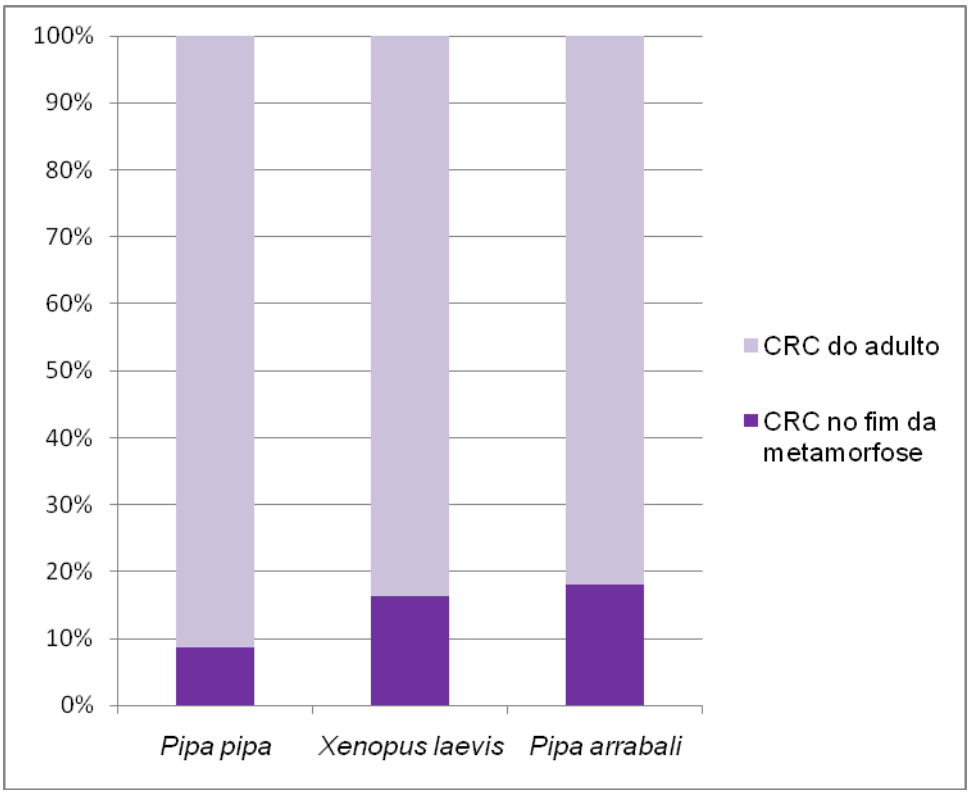


Figura 4.9.1. Gráfico correlacionando o CRC no momento em que acaba a metamorfose com o CRC do adulto das espécies: *Pipa arrabali* (Presente estudo; TRUEB; CANNATELLA, 1986), *P.pipa* (TRUEB; CANNATELLA, 1986; TRUEB et al., 2000) e *Xenopus laevis* (TRUEB; HANKEN, 1992; KOBEL et al, 1996), em porcentagem.

Os dados aqui apresentados sugerem que inúmeras alterações no tempo de desenvolvimento ocorreram em diferentes regiões estudadas do condrocranio de

Pipa arrabali; todavia, segundo Atchley (1987), diferentes estruturas podem ter sequências de desenvolvimento diferentes.Ou seja, cada órgão ou região tem ritmo próprio para começar e terminar o desenvolvimento, como também taxas de desenvolvimento e crescimento distintas, nesses casos os efeitos heterocrônicos são dissociados (*sensu* MC KINNEY; MC NAMARA, 1991). No presente estudo constata-se em *Pipa arrabali* um mosaico de estruturas larvais e adultas evidenciando os processos heterocrônicos dissociados que ocorrem na espécie. Este mosaico heterocrônico que ocorre no desenvolvimento de *P. arrabali* já foi identificado em outras espécies de desenvolvimento direto, como *Eleutherodactylus coqui* (HANKEN et al., 1992; CALLERY; ELINSON, 2000). Algumas características larvais são mantidas nas espécies de desenvolvimento direto, podendo ser seletivamente neutras e não terem sofrido mutações suficientes para perturbar seu desenvolvimento; ou então estas estruturas larvais podem ter sido adaptadas para o novo modo de desenvolvimento, tendo assumido novas funções (CALLERY et al., 2001).

Outro fator importante a ser considerado é o fato de que podem ocorrer efeitos de combinação nos processos heterocrônicos atuando numa mesma região, o que dificulta a classificação de Alberch (1979 - tabela 1.1.). Como, por exemplo, a combinação de aceleração com “post-displacement” (que se compensam ao final do desenvolvimento, podendo gerar uma estrutura no descendente adulto muito semelhante à do ancestral) ou a combinação de aceleração com hipermorfose (que se somam ao final do desenvolvimento, podendo gerar uma estrutura no descendente adulto extremamente diferente à do ancestral) (KLINGENBERG, 1998).

Portanto, não é possível designar o processo heterocrônico global (*sensu* MCKINNEY; MCNAMARA, 1991) para o desenvolvimento craniano da espécie *Pipa arrabali*, sendo esta espécie um modelo representativo de mosaico heterocrônico de desenvolvimento.

5. Considerações finais

- O condrocrânio de *Pipa arrabali* apresenta extrema redução das regiões suprarostral e etmoidal.
- No condrocrânio em estágio de pré-ossificação diversas cartilagens estão reduzidas (e.g. comissura *quadratocranialis*; placa ótica) ou ausentes (e.g. processo ventro-lateral do palatoquadrado; processo muscular da cápsula ótica).
- Existem diversas evidências de peramorfose nas cartilagens do condrocrânio em estágio de pré-ossificação (e.g. ausência do forame carótico primário; processo muscular do palatoquadrado posicionado posteriormente, no meio do arco subocular).
- O embrião de *P. arrabali* é pequeno demonstrando indícios de aceleração do desenvolvimento ontogenético e consequente diminuição do tempo de metamorfose.
- A presença de infrarostrais cartilaginosos, correspondendo ao primeiro registro desta cartilagem para o gênero *Pipa*.
- As observações de inconguências indicam que o os infrarostrais encontrados em Pipidae podem não ser homólogos aos dos demais anuros.
- A ausência de cópula I e a presença de cópula II no aparelho hiobranquial de *Pipa arrabali* contradizem muitos trabalhos e generalizações anteriores para o gênero.
- A *pars reuniens* forma uma peça única contínua com os ceratoiais, característca esta que aparece como sinapomorfia compartilhada apenas com *Pipa pipa*.
- Os ceratobranquiais muito simples, pequenos sem espículas, raios nem filamentos cartilaginosos reflem o modo reprodutivo de desenvolvimento direto.
- No desenvolvimento do aparelho plectoral, o primeiro elemento a surgir em *Pipa arrabali* é a *pars interna plectri*, evento único dentre os anfíbios.
- As cartilagens nasais são reduzidas, delgadas (e.g. cartilagem oblíqua, *lamina inferior cristae intermediae*; *solun nasi*) ou ausentes (e.g. lâmina superior, cartilagem *praenasalis* inferior, crista subnasalis).

- Os eventos de desenvolvimento das cápsulas nasais são invertidos em *Pipa arrabali* e *P.pipa*. Em *Pipa arrabali* ocorre primeiro o surgimento da cartilagem oblíqua e depois o da *lamina inferior crista intermédia* e em *P. pipa* ocorre o inverso. Sendo a sequência destes eventos em *P. arrabali* concordantes com o que ocorre em *Xenopus laevis*.
- As espécies já estudadas de Pipidae apresentam aceleração no desenvolvimento das cartilagens nasais no sentido crescente: *Xenopus laevis*, *Pipa carvalhoi*, *P. arrabali*, *P. pipa*.
- *Pipa arrabali* apresenta “pre-displacement” e aceleração no desenvolvimento do aparelho hiobranquial (característica compartilhada com outros anuros com desenvolvimento direto como *P. pipa* e *Eleutherodactylus nubicola*).
- O desenvolvimento do aparelho hiobranquial adulto de *Pipa arrabali* segue uma rota ontogenética distinta das demais rotas já descritas para o gênero; porém, o aparelho hiobranquial adulto das espécies de *Pipa* são muito semelhantes, o que sugere certa independência do processo evolutivo que atua na forma larval, na rota ontogenética e na forma adulta.
- A ossificação craniana em *P. arrabali* sofre “post-displacement”, sendo o crânio pós-metamórfico pouco ossificado.
- Os ossos endocondrais sofrem um “post-displacement” ainda maior que os ossos dérmicos.
- A sequência de ossificação de *P. arrabali* se assemelha mais à de *P. pipa* enquanto as sequências de ossificação craniana de *P. carvalhoi* e *P. myersi* se assemelham mais entre si.
- A ossificação da mandíbula sofre “pre-displacentment”, revertendo a sinapomorfia de Anura caracterizado pelo atraso do aparecimento dos ossos mandibulares. Esta característica compartilhada com os demais pipídeos (mais acentuada no gênero *Pipa*) e anuros de desenvolvimento direto.
- A ocorrência de um possível truncamento do desenvolvimento craniano, evidenciada pela falta dos ossos que aparecem, em geral, no final da metamorfose ou pós-metamorfose. Esta progênese é compartilhada pelas demais espécies da família Pipidae já descritas.

- *Pipa arrabali* apresenta um mosaico heterocrônico de desenvolvimento, não sendo possível designar uma heterocronia global para o desenvolvimento condrocraniano da espécie.

6. Referências bibliográficas

ALBERCH, P. Problems with the interpretation of developmental sequences. **Systematic Zoology**, v. 34, p. 46-58, 1985.

ALBERCH, P.; GOULD, S. J.; OSTER, G.; WAKE, D. B. Size and shape in ontogeny and phylogeny. **Paleobiology**, v. 5, p. 296-317, 1979.

ARAÚJO, O. G. S. 2006. Ontogenia de *Pipa carvalhoi* e comparação com *Xenopus laevis* (Anura; Pipidae). Monografia: *Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências*, Rio Claro: Universidade estadual de São Paulo, UNESP, 2006.

ATCHLEY, W. R. Developmental quantitative genetics and the evolution of ontogenies. **Evolution**, v. 41, p. 316-330, 1987.

BÁEZ, A. M. The fossil record of the Pipidae. pp. 339–347 in R. C. Tinsley and H. R. Kobel (eds.), **The Biology of *Xenopus***. The Zoological Society of London, Clarendon Press, Oxford, 1996.

BÁEZ, A. M.; SCANFERLA, C. A.; AGNOLIN, F. L.; CENIZO, M.; LOS REYES, M. Pipid frog from the Pleistocene of the Pampas of Southern South America. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 28, n.4, p. 1195–1198, 2008.

BÁEZ, A. M.; PUGENER, L. A. Ontogeny of a new Palaeogene pipid frog from southern South America and xenopodinomorph evolution. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 139, p. 439-476, 2003.

CALLERY, E.M.; ELINSON, R.P. Opercular development and ontogenetic reorganization in a direct developing frog. **Development Genes and Evolution**, v. 210, p. 377-381, 2000.

CANNATELLA, D. C.; TRUEB, L. Evolution of pipoid frogs: Intergeneric relationships of the aquatic frog family Pipidae (Anura). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 94, p. 1-38. 1988.

DE BEER, G. **The development of the vertebrate skull**. Oxford, Claredon Press. 1937.

DE JONGH, H. J. Functional morphology of the jaw apparatus of larval and metamorphosing *Rana temporaria*. **Netherlands Journal Zoology**, v. 18, n.1, p. 1-103, 1968.

DEL PINO, E. M.; ESCOBAR, B. Embryonic stages of *Gastrotheca riobambe* (Fowler) during maternal incubation and comparison of development with other marsupial frogs. **Journal of Morphology**, v.167, p. 277–295, 1981.

DE PINNA, M. G. G. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. **Cladistics**,v. 7, p. 367-394, 1991.

DE SÁ, R. O.; SWART, C. C. Development of the suprarostral plate of pipoid frogs. **Journal of Morphology**, v. 240**,** p. 143-153, 1999.

DOWNIE, J. R.; BRYCE, R.; SMITH, J. Metamorphic duration: an under-studied variable in frog life histories. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 83, p. 261–272, 2004.

DUELLMAN, W.E A New Species of Marsupial Frog (Hylidae: Gastrotheca) from Colombia and Ecuador. **Copeia**, v. 1983, n. 4, p. 868-874, 1983.

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, p.205–220, 2009.

FROST, D. R.; GRANT, T.; FAIVOVICH, J.; BAIN, R. H.; HAAS, A.; HADDAD, C. F. B.; DE SÁ, R. O.; CHANNING, A.; WILKINSON, M.; DONNELLAN, S. C.; RAXWORTHY, C. J.; CAMPBELL, J. A.; BLOTTO, B. L.; MOLER, P.; DREWES, R. C.; NUSSBAUM, R. A.; LYNCH, J. D.; GREEN, D. M.; WHEELER, W. C. The amphibian tree of life. **Bulletin of the American Museum of the Natural History**, v. 297, 370 p., 2006.

FROST, D. R. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 5.3. American Museum of Natural History, New York, 2010. Disponível em: *http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/* . Acesso em: 01 junho 2010.

ETKIN, W. E. Growth and resorption phenomena in anuran metamorphosis, I. **Physiological Zoology**, v. 5, p. 275–300, 1932.

GAUPP, E. Beitrage zur morphologie dês schädels. I: Primordial-cranium ud kieferbogen von *Rana fusca*. **Morphologische Arbeiten**, v.3, p.399-438, 1893.

GRIFFITHS, I. On the nature of the fronto-parietal in Amphibia, Salientia. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v.123, p. 781–792,1954.

GOSNER, K. L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v.16, p. 183–190, 1960.

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 p.163-171, 1996.

HAAS, A. Phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters (Amphibia: Anura). **Cladistics**, v.19, p. 23-89, 2003.

HANKEN, J.; KLYMKOWSKY, M. W.; SUMMERS, C. H.; SEUFERT, D. W.; INGEBRIGTSEN, N. Cranial ontogeny in the direct-developing frog, *Eleutherodacfylus coqui* (Anura: Leptodactylidae), analyzed using whole-mount lmmunohistochemistry. **Journal of Morphology**, v.21, p.95-118, 1992.

JEFFERY, J. E.; RICHARDSON, M. K.; COATES, M. I.; BININDA-EMONDS, O. R. P. Analyzing developmental sequences within a phylogenetic framework. **Systematic Biology**, v. 51, n. 3, p. 478–491, 2002.

JURGENS, J. D. The morphology of the nasal region of Amphibia and its bearing on the phylogeny of the group. **Annale Universiteit Stellenbosch**, v.46 A, n. 2, p. 1–146, 1971.

KEMP, N. E.; HOYT, J. A. Sequence of ossification in the skeleton of growing and metamorphosing tadpoles of *Rana pipiens.* **Journal of Morphology**, v.128, p. 415-444, 1969.

KERNEY, R.; MEEGASKUMBURA M.; MANAMENDRA-ARACHCHI, K.; HANKEN, J. Cranial ontogeny in *Philautus silus* (Anura: Ranidae: Rhacophorinae) reveals few similarities with other direct-developing anurans. **Journal of Morphology**, v. 268, p. 715–725, 2007.

KINGSBURY, B. F.; REED, H.D. The columella auris in Amphibia. **Journal of Morphology**, v.20, n. 4, p. 549-627, 1908.

KLINGENBERG, C. P. Heterochrony and allometry: the analysis of evolutionary change in ontogeny. **Biological Reviews**, v. 73, p. 79-123, 1998.

KOBEL, H.R.; LOUMONT, C.; TINSLEY, R.C. The extant species. *In*: Tinsley, R.C. and Kobel, H.R., Eds). **The Biology of *Xenopus***. Clarendon Press, Oxford. p. 9–33, 1996.

LYNN, W. G. The embryology of *Eleutherodactylus nubicola,* an anuran which has no tadpole stage. **Contribution to Embryology. Carnegie Inst Washington**, v.541, p. 27-62, 1942.

MAGLIA, A. M.; PUGENER, L. A.; TRUEB, L. Comparative development of anurans: using phylogeny to understand ontogeny. **American Zoologist**, v.41, p. 538-551, 2001.

MCKINNEY, M. L.; MCNAMARA, K. J. **Heterochrony: the Evolution of Ontogeny**. Plenum Press, New York,1991.

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, Amsterdam, 1956.

PATERSON, N. F. The head of *Xenopus laevis*. **Quartely Journal of Microscopical Science**, v. 81, p. 161-234, 1939.

PATERSON, N. F. The skul *Hymenochyrus curtipes*. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v. 115, p. 327-354, 1945.

PATERSON, N. F. The nasal cavities of the toad *Hemipipa carvalhoi* Mir.-Rib. and other Pipidae. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v.121, p. 381-415, 1951.

PATERSON, N.F. The skull of the toad*, Hemipipa carvalhoi* Mir:Rib., with remarks on other Pipidae*.* **Proceedings of the Zoological Society of London**, v.125, p. 223-252*,* 1955.

PATERSON, N. F. The inner ear of some members of the Pipidae (Amphibia). **Proceedings of the Zoological Society of London**, v. 134, n.4, p. 509-546, 1960.

PARKER, W. K. On the structure and development of the skull in the Batrachia. Part II. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v.166, p. 601-669, 1876.

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, p. 129-155, 2003.

PUGENER, L. A.; MAGLIA, A. M. Skeletal morphology and development of the olfactory region of *Spea* (Anura: Scaphiopodidae). **Journal of Anatomy**, v. 211, p. 754-768, 2007.

PUSEY, H. K. Structural changes in the Anuran mandibular arch during metamorphosis, *Rana temporaria*. **Quartely Journal of Microscopical Science**, v. 80, p. 479-552, 1938.

RABB, G. B.; RABB, M. S. On the mating and egg- laying behaviour of the Surinam toad *Pipa pipa*. **Copeia***,* v. 1960, p. 271-276, 1960.

RIDEWOOD, W.G. On the structure and development of the hyobranchial skeleton and larynx in *Xenopus* and *Pipa*. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 26, p. 53–128, 1897.

RIDEWOOD, W. G. On the larval hyobranchial skeletons of the anurous batrachians, with special reference to the axial parts. **Journal Linnean Society of London,** n. 26, p. 474–487, 1898.

ROČEK, Z. Cranial anatomy of frogs of the family Pelobatidae Stannius, 1856, with outlines of their phylogeny and systematics. **Acta Universitatis Carolinae - Biologica**, p. 1-164, 1981.

ROČEK, Z. Origin and evolution of the frontoparietal complex in anurans. **Amphibia-Reptilia**, n. 9, p. 385-403, 1988.

ROČEK, Z. Origin and evolution of the anuran postnasal wall and adjacent parts of the palatoquadrate. **Ethology, Ecology & Evolution**, v. 5, p. 247-265, 1993.

ROČEK, Z. Larval development and evolutionary origin of the anuran skull. Chapter 7 in: HEATWOLE, H. (ed) **Amphibian Biology – Osteology**, p. 1878-1995. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, 2003.

ROČEK, Z.; VESEJÝ, M. Development of the ethmoidal structures of the endocranium in the Anura *Pipa pipa*. **Journal of Morphology**, v. 200, p**.** 301-319, 1989.

SEDRA, S. N.; MICHAEL, M. I. The development of the skull, visceral arches, larynx and visceral muscles of the South African clawed toad, *Xenopus laevis* during the process of metamorphosis (from stage 55 to stage 66). **Verhandelingen der Koninklijke Nederlandse Akademie Van Wetenschappen Afd. Natuurkunde**, v. 51, p. 1-80, 1957.

SOKOL, O. M. The phylogeny of anuran larvae: a new look. **Copeia**, v. 1975, p. 1-24, 1975.

SOKOL, O. M. The free swimming *Pipa* larvae, with a review of pipid larvae and pipid phylogeny (Anura: Pipidae). **Journal of Morphology**. v. 154, p. 357-426, 1977.

SWART, C. C.; DE SÁ, R. O. The chondrocranium of the Mexican burrowing toad, *Rhinophrynus dorsalis*. **Journal of Herpetology**, v. 33, p. 23-28, 1999.

TAYLOR, A. C.; KOLLROS, J. J. Stages in the normal development of *Rana pipiens* larvae. **Anatomy Record**, v. 94, p. 7-23, 1946.

TAYLOR, W. R.; VAN DYKE, G. C. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. **Cybium**, v. 9, p. 107-119, 1985.

TINSLEY, R. C.; KOBEL, H. R. **The Biology of *Xenopus***. The Zoological Society of London, Clarendon Press, Oxford. 1996

TOWNSEND, D. S.; STEWART, M. M. Direct development in *Eleutherodactylus coqui*: a staging table. **Copeia**, v. 1985, p. 423–436, 1985.

TRUEB, L. A Summary of osteocranial development in anurans with notes on the sequence of cranial ossification in *Rhinophrynus dorsalis* (Anura: Pipoidea: Rhinophrynidae). **Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Wetenskap**, v. 81, p. 181-185, 1985.

TRUEB, L. Historical constraints and morphological novelties in the evolution of the skeletal system of pipid frogs (Anura: Pipidae). (In) R. C. Tinsley and H. R. Kobel (eds.), **The Biology of *Xenopus***. The Zoological Society of London, Clarendon Press, Oxford, p. 350–377, 1996.

TRUEB, L. Patterns of cranial diversity among the Lissamphibia. (In) HANKEN, J.; HALL, B. K. (eds.), **The Skull: Patterns of Structural and Systematic Diversity**. University of Chicago Press, v. 2, p. 255–343, 1993.

TRUEB, L. Bones, frogs, and evolution. Pp. In (Eds.), In: VLAL, J. L. (ed.) **Evolutionary Biology of the Anurans: Contemporary Research on Major Problems**. University of Missouri Press, Columbia p. 65-132, 1973.

TRUEB L, ALBERCH P. Miniaturization and the anuran skull: a case study of heterochrony. In: Duncker H, Fleischer R, editors. **Trends in Vertebrate Morphology**. Stuttgart/New York:Gustav Fischer Verlag. p. 113–121, 1985.

TRUEB, L; CANNATELLA, D. C. The cranial osteology and hyolaryngeal apparatus of *Rhinophrynus dorsalis* (Anura: Rhinophrynidae) with comparisons to recent pipoid frogs. **Journal of Morphology**, v.171, p. 11–40, 1982.

TRUEB, L.; CANNATELLA, D. Systematics, morphology, and phylogeny of genus *Pipa* (Anura: Pipidae). **Herpetologica**, v. 42, p. 412-449, 1986.

TRUEB, L.; HANKEN, J. Skeletal development in *Xenopus laevis* (Anura: Pipidae). **Journal of Morphology**, v. 214, p. 1-41, 1992.

TRUEB, L.; PUGENER, L. A.; MAGLIA, A. M. Ontogeny of the bizarre: An osteological description of *Pipa pipa* (Anura: Pipidae), with an account of skeletal development in the species. **Journal of Morphology**, v. 243, p. 75-104, 2000.

TRUEB, L.; MASSEMIN, D. The osteology and relationships of *Pipa aspera* (Amphibia: Anura: Pipidae), with notes on its natural history in French Guiana. **Amphibia-Reptilia**, v. 1, p. 33–54, 2001.

VILLIERS, C. G. S. The Cranial Characters of the Brevicipitid Genus *Cacosternum* (Boulenger). **Quartely Journal of Microscopical Science** , v.74, p. 275-302, 1931.

WAGNER, G. P.; CHIU C. H.; LAUBICHLER, M. Developmental evolution as a mechanistic science: the inference from developmental mechanisms to evolutionary processes. **American Zoologist**, v. 40, p. 819–831, 2000.

WASSERSUG, R. J. Aspects of social behavior of anuran larvae. In: VIAL, J.L. (ed.). **Evolutionary Biology of the Anurans: Contemporary Research on Major Problems**. Univ. Missouri Press, Columbia, p. 273-297, 1973.

WEBSTER, M.; ZELDITCH, M. L. Evolutionary modifications of ontogeny: heterochrony and beyond. **Paleobiology***, v.* 31, n. 3, p. 354–372, 2005.

WEYGOLDT, P. Beobachtungen zur Biologie und Ethologie von *Pipa* (*Hemipipa*) *carvalhoi* MIR. RIB. 1937 (Anura, Pipidae). **Zeitschrift für Tierpsychologie***,* v. 40, p.80-99, 1976.

YEH, J. The evolution of development: two portraits of skull ossification in pipoid frogs. **Evolution**, v. 56**,** p. 2484-2498, 2002.

Anexo I – Tabela pesos e medidas dos embriões

Tabela 1. Relação do peso, comprimento rostro-cloacal (CRC), largura do condrocrânio na altura das cápsulas óticas (LC) e comprimento da cauda (CC) de cada espécime de *Pipa arrabali* analisado.

Espécime	Peso (g)	CRC (mm)	LC (mm)	CC (mm)
35027-A	0,0090	3,51	1,01	2,89
35027-B	0,0105	3,79	1,7	3,66
35027-C	0,0069	3,62	1,61	3,24
35055-A	0,0127	3,81	1,14	5,76
35055-B	0,0137	4,41	1,87	5,45
35055-C	0,0128	4,54	2,01	5,82
35000-A	0,0291	5,3	2,57	5,51
35000-B	0,0289	5,67	2,58	6,75
35000-C	0,0249	5,91	2,32	5,68
35008-A	0,0335	5,79	1,62	6,25
35008-B	0,0289	5,47	2,42	4,63
35008-C	0,0316	6,74	2,68	5,6
35045-A	0,0347	5,96	3,01	6,65
35045-B	0,0298	5,8	3,02	6,83
35045-C	0,0333	5,67	3,12	8,7
35019-A	0,0501	7,18	3,5	8,05
35019-B	0,0544	7,12	3,24	9,66
35019-C	0,0495	6,8	3,6	5,13
35030-A	0,0681	6,9	3,7	3,19
35030-B	0,0706	6,89	3,12	10,2
35030-C	0,0521	7,3	3,7	6,5
35056-A	0,0592	7,28	3,92	0
35056-B	0,0734	7,46	4,04	0
35056-C	0,0640	7,3	3,59	0
35051-A	0,0717	8,21	4,25	0

35051-B	0,0735	7,3	3,87	0
35051-C	0,0762	6,79	3,46	0
35015-A	0,0717	6,96	3,45	5,03
35015-B	0,0790	6,36	3,72	5,63
35015-C	0,0700	6,99	3,71	6,07
35014-A	0,0788	7,72	3,83	0
35014-B	0,0821	8,4	4,2	0
35014-C	0,0717	7,34	3,6	0,4
35033-A	0,0881	7,16	3,9	0
35033-B	0,0804	7,33	4,32	1,99
35033-C	0,0701	7,8	3,95	0
35013-A	0,0912	7,45	3,85	3,05
35013-B	0,0689	7,36	3,88	3,83
35013-C	0,0621	8,11	4,29	4,63
35018-A	0,0755	8,7	4,58	1,25
35018-B	0,0973	8,92	4,53	0
35018-C	0,1032	9,22	4,27	0
35053-A	0,0584	4,75	3,67	3,9
35053-B	0,1176	6,6	4,56	3,73
35053-C	0,1126	7,07	4,45	3,51
35059-A	0,0868	9,64	4,58	0
35059-B	0,1302	10,79	5,3	0
35059-C	0,1033	12,01	5,58	0
35050-A	0,1214	8,92	4,82	4,03
35050-B	0,1127	8,55	4,76	3,47
35050-C	0,1358	9,24	4,67	0,96
35001-A	0,1673	9,32	4,38	0
35001-B	0,1363	10,17	4,24	0
35001-C	0,1318	9,47	5,02	0
14942-A	0,1445	9,45	5,06	0

14942-B	0,1802	10,5	5,09	0
14942-C	0,1558	11,68	5,7	0

Anexo II – Pranchas

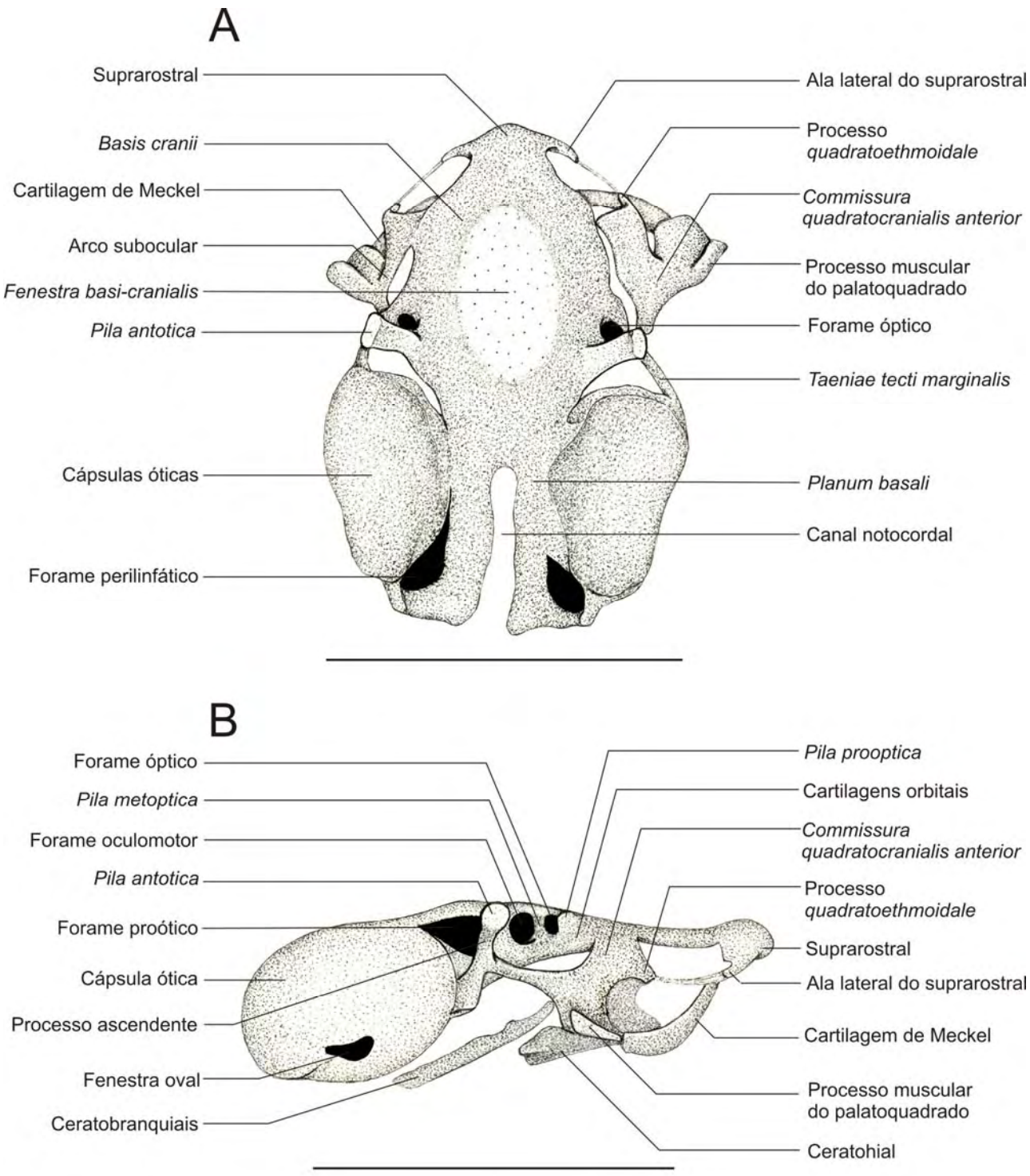


Figura 1. Condrocrânio diafanizado do embrião 35027 – A (CRC: 3,51 mm) de *Pipa arrabali*. **A**: vista dorsal; **B**: vista lateral direita. As barras representa 1mm.

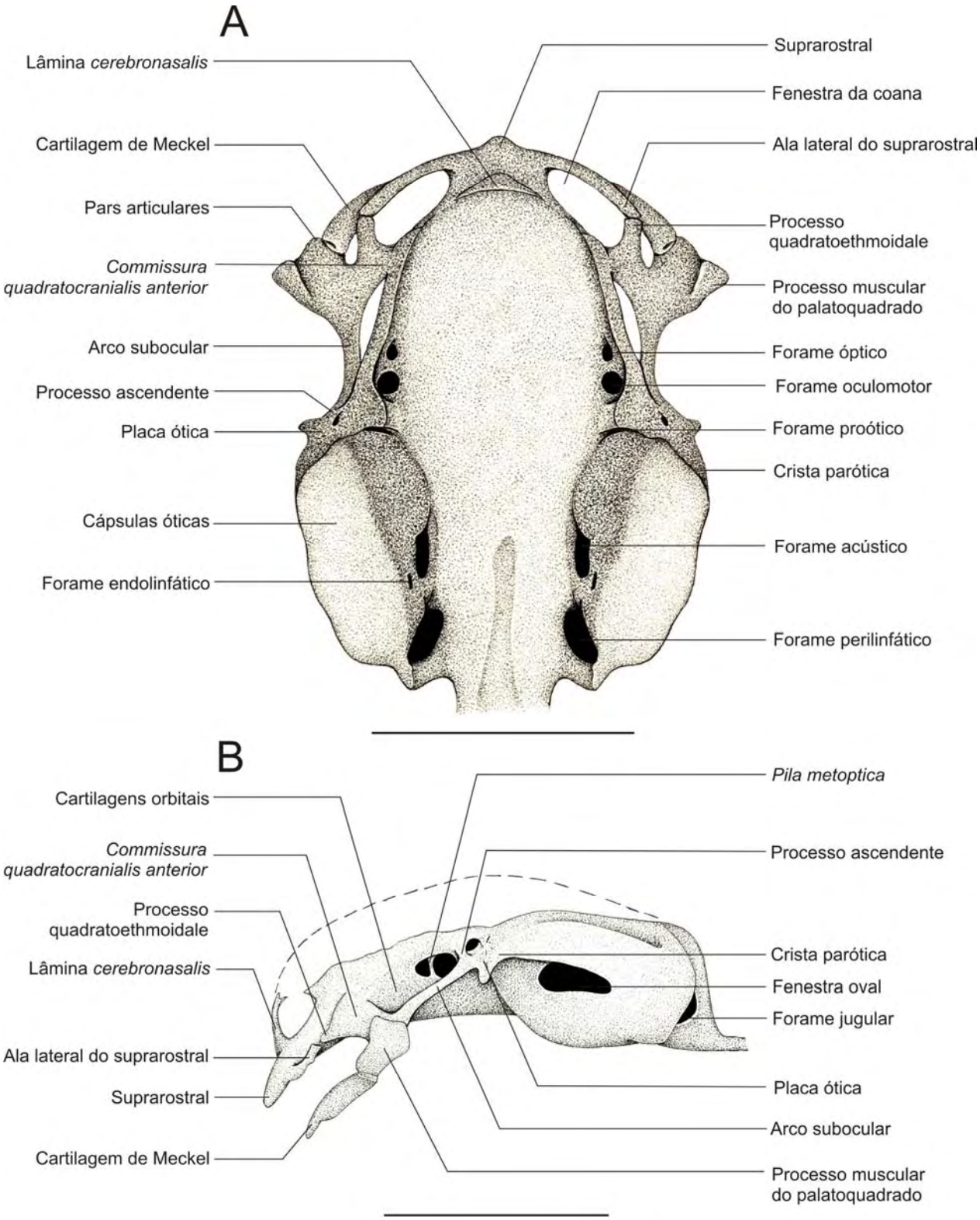


Figura 2. Condrocrânio diafanizado do embrião 35055 – B (CRC: $,41 mm) de *Pipa arrabali*. **A**: vista dorsal; **B**: vista lateral esquerda. As barras representam 1mm.

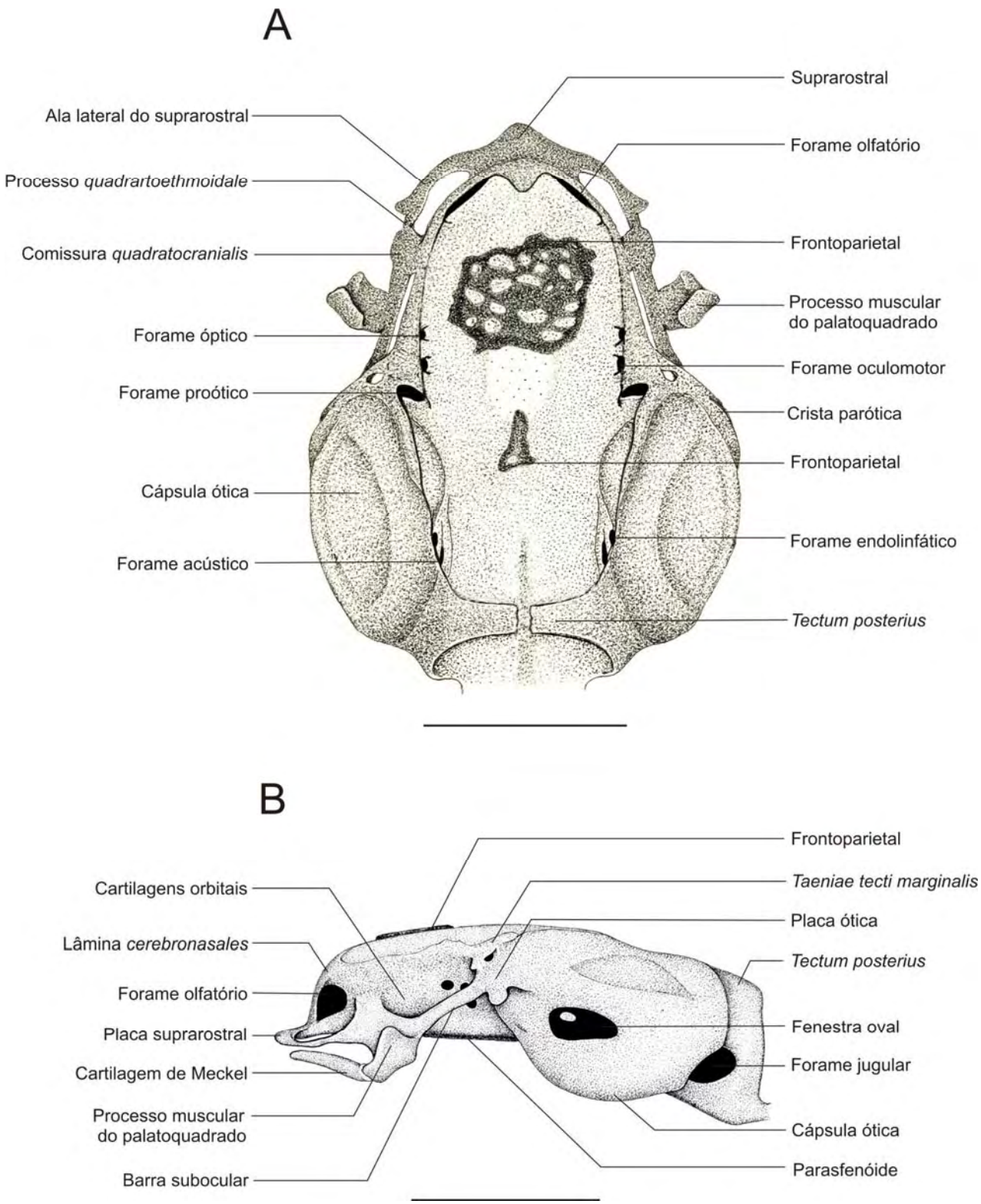


Figura 3. Condrocrânio diafanizado do embrião 35008 – A (CRC: 5,79 mm) de *Pipa arrabali*. **A**: vista dorsal; **B**: vista lateral esquerda. As barras representam 1mm.

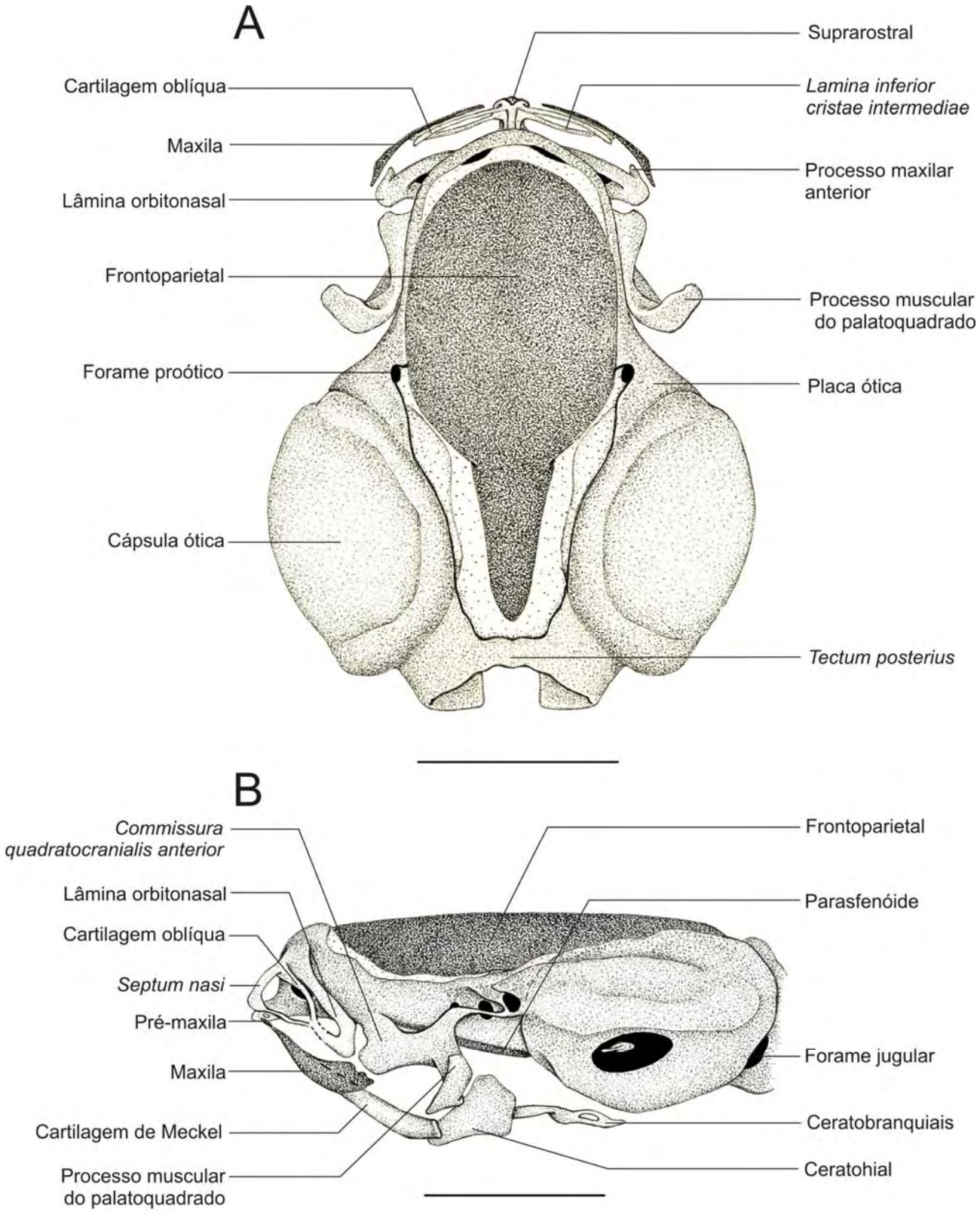


Figura 4. Condrocrânio diafanizado do embrião 35045 – C (CRC: 5,67 mm) de *Pipa arrabali*. **A**: vista dorsal; **B**: vista lateral esquerda. As barras representam 1mm.

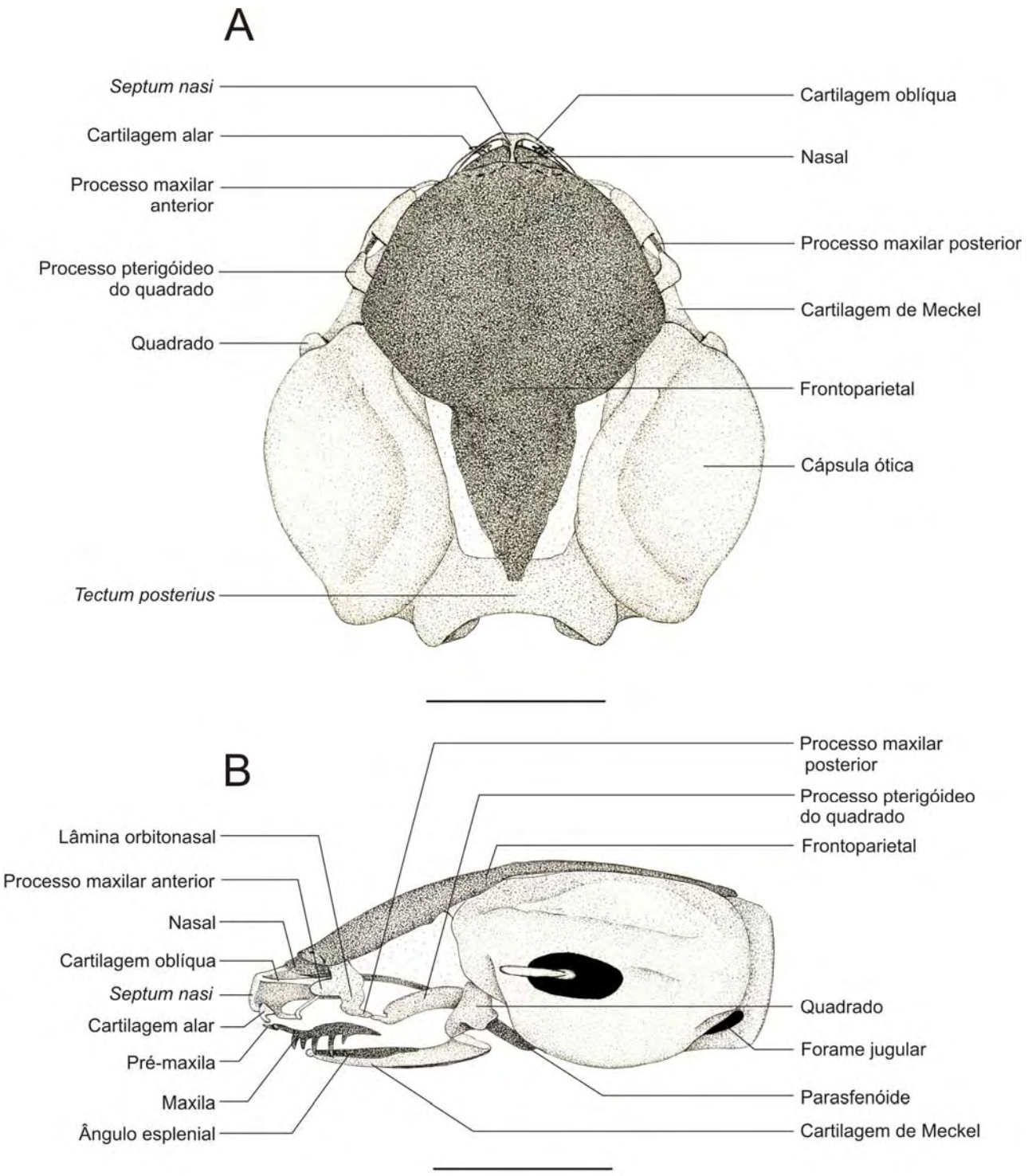


Figura 5. Condrocrânio diafanizado do embrião 35019 – B (CRC: 7,12 mm) de *Pipa arrabali*. **A**: vista dorsal; **B**: vista lateral esquerda. As barras representam 1mm.

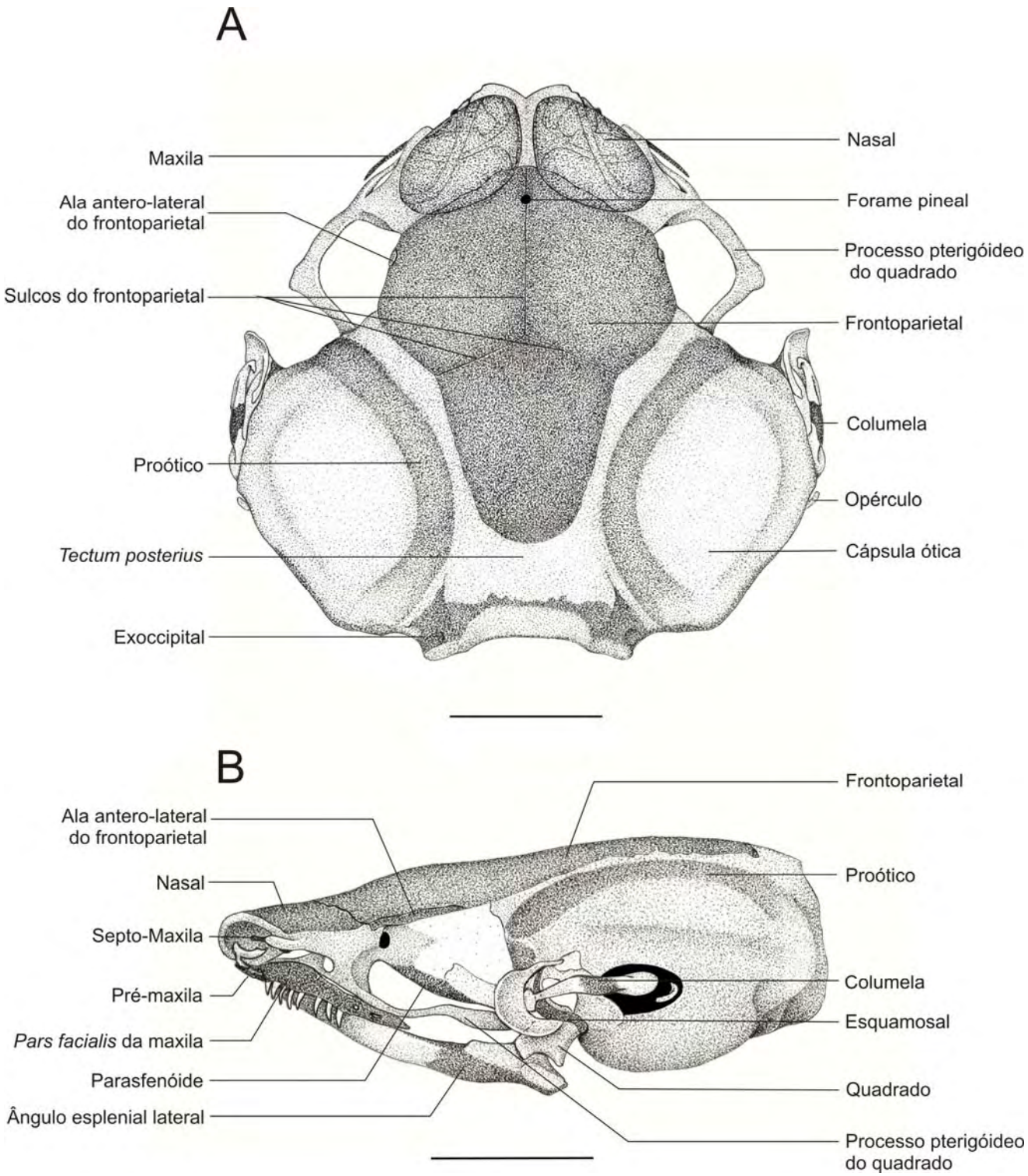


Figura 6. Condrocrânio diafanizado do embrião 14942 – B (CRC: 10,50 mm) de *Pipa arrabali*. **A**: vista dorsal; **B**: vista lateral esquerda. As barras representam 1mm.

_____

Olívia Gabriela dos Santos Araújo

_____

Célio F. B. Haddad