

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 09/05/2019.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)**

**DISTRIBUIÇÃO E TAXONOMIA DE *BRACHYCEPHALUS* SP. (AFF. *PERNIX*)
(ANURA: BRACHYCEPHALIDAE)**

JULIANE PETRY DE CARLI MONTEIRO

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

Maio - 2017

JULIANE PETRY DE CARLI MONTEIRO

Distribuição e taxonomia de *Brachycephalus* sp. (aff. *pernix*) (Anura: Brachycephalidae)

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

Orientador: Dr Célio Fernando Baptista Haddad

Coorientadora: Dra Thais Helena Condez

Rio Claro
2017

591 Monteiro, Juliane Petry De Carli
M775d Distribuição e taxonomia de *Brachycephalus* sp. (aff. *pernix*) (Anura: Brachycephalidae) / Juliane Petry De Carli Monteiro. - Rio Claro, 2017
114 f. : il., figs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Célio Fernando Baptista Haddad
Coorientador: Thais Helena Condez

1. Animais - Classificação. 2. Taxonomia de grupos recentes. 3. Mata Atlântica. 4. Diversidade. 5. Miniaturização. 6. Altitude. 7. Sapinho-pingo-de-ouro. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DISTRIBUIÇÃO E TAXONOMIA DE BRACHYCEPHALUS SP. (AFF. PERNIX) (ANURA: BRACHYCEPALIDAE)

AUTORA: JULIANE PETRY DE CARLI MONTEIRO
ORIENTADOR: CELIO FERNANDO BAPTISTA HADDAD
COORIENTADORA: THAIS HELENA CONDEZ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. CELIO FERNANDO BAPTISTA HADDAD
Departamento de Zoologia / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



Prof. Dr. PAULO CHRISTIANO DE ANCHIETTA GARCIA
Departamento de Zoologia - Instituto de Ciências Biológicas / UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais - Belo Horizonte - MG



Prof. Dr. TARAN GRANT
Departamento de Zoologia / USP - Universidade de São Paulo - São Paulo - SP

Rio Claro, 09 de maio de 2017

À Mata Atlântica, por fornecer
o material de estudo para este trabalho.

E, aos meus avós Edithe de Carli Monteiro &
Celso de Barros Monteiro, pelo exemplo, pela
luta e por todo o amor.

AGRADECIMENTOS

Sou muito grata aos meus orientadores Célio F. B. Haddad e Thais H. Condez pela oportunidade, pelo acolhimento, por todo aprendizado e amadurecimento, pelas experiências e pela amizade. Também agradeço por serem esses gigantes parceiros junto aos minúsculos *Brachycephalus*. Célio, muito obrigada pelo aporte e toda a infraestrutura do seu laboratório. Thais, obrigada por todo seu incentivo sempre e sua valiosa ajuda.

Agradeço também ao Paulo C. A. Garcia e ao Ivan B. Amaral que me apoiaram num momento onde não tive orientação alguma na herpetologia, todavia não me deixaram desistir, pelo contrário, me incentivaram. Então, todo este trabalho acabou sendo uma ideia decorrente dos resultados do Plano de Ação Nacional para Conservação dos Anfíbios e Répteis Ameaçados da Região Sul do Brasil (PORTARIA Nº 22, DE 17 DE FEVEREIRO DE 2012), do qual vocês me convidaram para participar.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado concedida (#131947/2015-0). À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento para a maior parte das expedições a campo (#2013/50741-7).

A Seção Técnica de Pós-Graduação (Zoologia) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, pelos esclarecimentos e ajuda durante este período.

Ao Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS/UNESP/Rio Claro) por fornecer as instalações laboratoriais para os procedimentos moleculares. Mariana Lyra muito obrigada pela sua ajuda no CEIS.

A Universidade da Região de Joinville pela hospedagem na Vila da Glória nas épocas de coleta de dados. Obrigada ao Sidnei Dornelles e Cláudio Tureck por sempre estarem dispostos a facilitar as burocracias. E também, a todos os moradores locais que permitiram o acesso em suas terras para explorarmos a Serra do Saí e a Serra da Palha.

A minha amiga Yara de Mello por me confirmar que já havia visto um sapinho-pingo-de-ouro na Serra do Saí, o que me levou a sua procura neste local. E ao Reginaldo Carvalho, por me dar muitas dicas de montanha e me fornecer trilhas precisas da região de Joinville. Obrigada queridos geógrafos.

Anna K. Krassota, Renan Paitach e Pedro Balieiro, obrigada pela amizade, alegrias e por todo apoio em épocas muito difíceis dos últimos dez anos. Renan e Pedro, obrigada pelo alojamento durante alguns campos e as boas conversas.

Aos amigos e colegas que sempre fizeram do laboratório um ambiente agradável: Ariadne Sabbag, Amanda Lantyer, Ana Carolina Calijorne, Ana Paula Motta, Anyelet Valencia, Bianca Berneck, Boris Blotto, Carla Lopes, Danilo Delgado, Délio Baêta, Fábio de Sá, Leo Malagoli, Marcus Thadeu Santos, Mariana Lyra, Nadya Pupin, Natalia Salles, Paulo Pinheiro, Pedro Taucce, Priscila Lemes, Thais Condez e Tereza Thomé.

Obrigada também a Bianca Berneck, Délio Baêta, Mariana Lyra e Tereza Thomé pelas avaliações deste trabalho ao longo desses dois anos. E a todos que de alguma forma me deram dicas e ideias para eu desenvolver essa dissertação, muito obrigada!

Aos amigos que pude compartilhar nesse tempo a paixão por caçar sapos no mato: Anyelet Valencia, Eli de Nardin, Leo Malagoli, Marcus Thadeu Santos e Thais Condez.

Aos meus pais, Nidia Petry C. M. e Jaime C. Monteiro pelo apoio e por compreender que tive que trocar a presença pela saudade. Aos meus queridos avós Celso Monteiro e Edithe De Carli, por lutarem até hoje pela família e apoiarem meu pai em momentos muito difíceis. A energia guerreira já vem desta geração!

Ao meu companheiro de aventuras, Eli de Nardin, que participou de todo esse amadurecimento de forma profunda, não medindo esforços para me manter sempre de cabeça erguida. Obrigada por estar ao meu lado.

RESUMO

Os sapos miniaturizados do gênero *Brachycephalus*, popularmente chamados de sapos-pulga e sapinhos-pingo-de-ouro, são endêmicos da Mata Atlântica do Brasil, ocorrendo nas regiões nordeste, sudeste e sul. A alta diversidade deste grupo, conforme verificado nos últimos anos, vem demonstrando uma interessante história evolutiva ainda não bem compreendida. As informações atuais nos direcionam, sobretudo, a dois cenários com relação a sua distribuição e taxonomia: o primeiro, representado pelos sapos-pulga que possuem ampla distribuição geográfica e altitudinal, representados por quatro espécies; e o segundo, representado pelos sapinhos-pingo-de-ouro que são restritos às encostas e aos topos de montanhas, majoritariamente microendêmicos, contendo a maior riqueza do gênero com 27 espécies. Recentemente, foi descoberto um significativo número de espécies de *Brachycephalus* para a região sul do Brasil, aumentando a atenção para esse gênero. Através de expedições a campo no nordeste de Santa Catarina, como resultado do Plano de Ação Nacional para a Conservação da Herpetofauna Ameaçada de Extinção da Região Sul do Brasil, uma iniciativa do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - Ministério do Meio Ambiente, foram obtidos registros para *Brachycephalus* em locais não amostrados anteriormente. Dessa forma, esse estudo amostrou nove localidades no nordeste de Santa Catarina, especialmente, em duas regiões de serra localizadas entre os municípios de Garuva, Itapoá e São Francisco do Sul junto ao Complexo Estuarino Baía Babitonga: Serra do Saí e Serra da Palha. Como resultado foi descoberta uma nova espécie de sapinho-pingo-de-ouro, sendo o primeiro registro deste grupo para áreas de baixada litorânea. Além disso, foram evidenciadas variabilidade morfológica e similaridades moleculares entre as populações encontradas, o que sugere tratar-se do primeiro registro de uma espécie *Brachycephalus* com populações claramente diferenciadas fenotipicamente, mas com alta homogeneidade em suas sequências de DNA analisadas.

ABSTRACT

The miniaturized toadlets of the genus *Brachycephalus*, popularly known as flea-toads and pumpkin toadlets, are endemic species of the Atlantic Forest, occurring in northeast, southeast, and south of Brazil. The high diversity of this group of species, as verified in recent years, highlights one attractive evolutionary history that is not completely understood. The current information suggests two distinct scenarios related to this species distribution and taxonomy: first, represented by the flea-toads, which have wide geographical and altitudinal distribution and comprises four species; and second, represented by the pumpkin toadlets, which are mostly microendemic (with geographic distribution restricted to the slopes and mountain tops) and comprises the greatest species richness of the genus, with 27 species. Recently, a significant number of *Brachycephalus* species were discovered from southern Brazil, increasing the general interest in this genus. During field expeditions to the northeastern of Santa Catarina state, organized by the Plano de Ação Nacional para a Conservação da Herpetofauna Ameaçada de Extinção da Região Sul do Brasil, one initiative of the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - Ministério do Meio Ambiente, records of *Brachycephalus* were obtained for new localities, never explored before. Thus, in this study we surveyed nine localities from northeastern Santa Catarina state, in two mountainous regions near the Babitonga Bay at the municipalities of Garuva, Itapoá and São Francisco do Sul: the Serra do Saí and the Serra da Palha. As a result from the expeditions we discovered a new species of pumpkin toadlet, which represents the first record for this group of species in lowland areas. In addition, we found morphological variability and molecular similarities within populations, suggesting that this could be the first record of a *Brachycephalus* species with populations clearly differentiated phenotypically, but with high homogeneity in their analyzed DNA sequences.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	9
Área de estudo	12
Objetivos e organização da dissertação	13
Referências.....	14
CAPÍTULO I.....	18
A new species of <i>Brachycephalus</i> (Anura, Brachycephalidae): the first record for a montane group of species in the Atlantic Forest lowlands of Brazil.....	18
Abstract.....	19
Resumo	19
Keywords	20
Introduction.....	20
Material and methods.....	21
Results.....	23
Discussion.....	32
Acknowledgements.....	33
References.....	33
Figures	39
Appendix.....	45
CAPÍTULO II.....	46
Distribuição geográfica, variação morfológica e molecular de uma nova espécie de <i>Brachycephalus</i> (Anura: Brachycephalidae) no nordeste do estado de Santa Catarina.....	46
Resumo	47
Abstract.....	47
Palavras-chave	48
1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
3 RESULTADOS	58
4 DISCUSSÃO	75
REFERÊNCIAS.....	85
Apêndice 1.	94
Apêndice 2.	96

Apêndice 3	97
Apêndice 4.....	98
CONCLUSÕES	102
ANEXO I.....	103
Comments on the current taxonomy of <i>Brachycephalus</i> (Anura: Brachycephalidae)	103
Acknowledgments	110
References.....	110
Figure 1	113

INTRODUÇÃO GERAL

As frequentes descrições de novas espécies de anfíbios vêm contribuindo com a ciência básica e conseqüentemente para estratégias e práticas de conservação (PADIAL & DE LA RIVA, 2006). Devido à alta devastação antrópica nos ambientes naturais no mundo todo, muitas vezes as espécies são descobertas já em risco de extinção (WHITTAKER *et al.*, 2013). Todavia, apesar da provável subestimação recorrente da riqueza de anfíbios (*e.g.* VIEITES *et al.*, 2009), é possível que em alguns grupos haja inflação taxonômica, principalmente naqueles compostos por espécies “carismáticas” (PADIAL & DE LA RIVA, 2006), fato conhecido nos dendrobatídeos (GRANT *et al.*, 2006), por exemplo. Assim, em muitos casos, para a determinação adequada de uma espécie é necessária uma taxonomia baseada em diferentes linhas de evidências (DAYRAT, 2005; PADIAL & DE LA RIVA, 2006; VIEITES *et al.*, 2009).

O Brasil possui uma extensa área territorial abarcando diferentes domínios morfoclimáticos na Região Neotropical (AB’SÁBER, 2003). Por este motivo, o país é responsável por abrigar a mais rica biodiversidade da fauna de anfíbios anuros se comparado aos outros países (AMPHIBIAWEB, 2017). O Domínio da Mata Atlântica revela um elevado número de endemismos proporcionado pela heterogeneidade de ambientes, majoritariamente, ao longo da região costeira (MORELLATO & HADDAD, 2000; CRUZ & FEIO, 2007; TOLEDO & BATISTA, 2012; HADDAD *et al.*, 2013). O rápido avanço da fragmentação e a descaracterização do hábitat natural estão dentre os principais impactos agravantes para o declínio populacional e extinções locais desse grupo de organismos, enquadrando a Mata Atlântica como área prioritária para preservação dentre os *hotspots* mundiais (MYERS *et al.*, 2000).

Nesse contexto, a família Brachycephalidae, endêmica da Mata Atlântica, é composta por dois gêneros: *Brachycephalus* Fitzinger, 1826 e *Ischnocnema* Reinhardt & Lütken, 1862. O gênero *Brachycephalus* é conhecido principalmente por apresentar essencialmente espécies miniaturizadas (CLEMENTE-CARVALHO *et al.*, 2009) e, geralmente, exibir colorações vibrantes que podem estar associadas ao aposematismo (PIRES *et al.*, 2005; POMBAL JR & IZECKSOHN, 2011). A maioria das espécies de *Brachycephalus* tem ocorrência nos complexos de montanhas na Serra do Mar, mas ocorrem também na Serra da Mantiqueira, na Serra de Paranapiacaba, nas Serras do Leste Catarinense e na Serra do Rio de Contas (IBGE, 2010; CONDEZ, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2015). O gênero é conhecido para os estados da

Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (NAPOLI *et al.*, 2011; HADDAD *et al.*, 2013; BORNSCHEIN *et al.*, 2016a).

Atualmente, existem 31 espécies descritas de *Brachycephalus*, sendo que a maioria foi reconhecida apenas a partir do século XXI (FROST, 2016). Com base em similaridades morfológicas podemos distinguir dois principais grupos entre as espécies de *Brachycephalus*: os sapos-pulga e os sapinhos-pingo-de-ouro (NAPOLI *et al.*, 2011). Além disso, com base em caracteres morfológicos e moleculares (CLEMENTE-CARVALHO *et al.*, 2011; PADIAL *et al.*, 2014), as espécies de *Brachycephalus* podem ser divididas em dois grupos: espécies de distribuição associada ao norte da Mata Atlântica (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) e sul da Mata Atlântica (Paraná e Santa Catarina).

Até o início da década passada era reconhecido o gênero *Psyllophryne*, ao qual pertenciam as espécies até então descritas de sapos-pulga (IZECKSOHN, 1971; GIARETTA & SAWAYA, 1998). Esse gênero se diferenciava de *Brachycephalus* devido à presença de *omosternum* na cintura peitoral (IZECKSOHN, 1971). Todavia, essa estrutura foi posteriormente encontrada em espécies pertencentes aos dois gêneros, tornando *Psyllophryne* um sinônimo junior de *Brachycephalus* (KAPLAN, 2002). Mais recentemente, essa informação foi corroborada por Clemente-Carvalho *et al.* (2011) e Padial *et al.* (2014) através de filogenias moleculares, nas quais os sapos-pulga não constituem um grupo monofilético, encontrando-se aninhados com as demais espécies do gênero *Brachycephalus*. Atualmente, os sapos-pulga são representados por quatro espécies [*B. didactylus* (Izecksohn, 1971); *B. hermogenesi* (Giaretta & Sawaya, 1998); *B. pulex* Napoli, Caramaschi, Cruz & Dias, 2011 e *B. sulfuratus* Condez, Monteiro, Comitti, Garcia, Amaral & Haddad, 2016 (SEGALLA *et al.*, 2016; FROST, 2016)]. Essas espécies apresentam coloração críptica, corpo “leptodactyliforme”, ausência de hiperossificação do esqueleto e ampla distribuição altitudinal e geográfica (IZECKSOHN, 1971; GIARETTA & SAWAYA, 1998; NAPOLI *et al.*, 2011; CONDEZ *et al.*, 2016). A amplitude latitudinal dos sapos-pulga abrange desde o estado da Bahia (*B. pulex*; NAPOLI *et al.*, 2011) até o estado de Santa Catarina (*B. sulfuratus*; CONDEZ *et al.*, 2016).

Os sapinhos-pingo-de-ouro são mais diversificados, com 27 espécies reconhecidas. Essas espécies encontram-se distribuídas desde o norte da Mata Atlântica, no Espírito Santo (*Brachycephalus alipioi*; POMBAL JR & GASPARINI, 2006), até o extremo sul da distribuição do gênero, em Santa Catarina (*B. fuscolineatus*; RIBEIRO *et al.*, 2015). As espécies de sapinhos-pingo-de-ouro com distribuição associada ao norte da Mata Atlântica [*B. alipioi* Pombal Jr & Gasparini, 2006; *B. atelopoide* Miranda-Ribeiro, 1920; *B. bufonoides*

Miranda-Ribeiro, 1920; *B. crispus* Condez, Clemente-Carvalho, Haddad & Reis, 2014; *B. ephippium* (Spix, 1824); *B. garbeanus* Miranda-Ribeiro, 1920; *B. guarani* Clemente-Carvalho, Giaretta, Condez, Haddad & Reis, 2012; *B. margaritatus* Pombal Jr & Izecksohn, 2011; *B. nodoterga* Miranda-Ribeiro, 1920; *B. pitanga* Alves, Sawaya, Reis & Haddad, 2009; *B. toby* Haddad, Alves, Clemente-Carvalho & Reis, 2010 e *B. vertebralis* Pombal Jr, 2001 (SEGALLA *et al.*, 2016; FROST, 2016)] apresentam colorações geralmente vibrantes, corpo “bufoniforme”, presença de diferentes graus de hiperossificação do esqueleto e distribuição geográfica restrita a regiões de encosta e topos de morros em altitudes elevadas (CLEMENTE-CARVALHO *et al.*, 2009; CONDEZ *et al.*, 2014; BORNSCHEIN *et al.*, 2016a). Já, as espécies de sapinhos-pingo-de-ouro com distribuição associada ao sul da Mata Atlântica [*B. albolineatus* Bornschein, Ribeiro, Blackburn, Stanley & Pie, 2016; *B. auroguttatus*, Ribeiro, Firkowski, Bornschein & Pie, 2015; *B. boticario*, Pie, Bornschein, Firkowski, Belmonte-Lopes & Ribeiro, 2015; *B. brunneus* Ribeiro, Alves, Haddad & Reis, 2005; *B. ferruginus* Alves, Ribeiro, Haddad & Reis, 2006; *B. fuscolineatus*, Pie, Bornschein, Firkowski, Belmonte-Lopes & Ribeiro, 2015; *B. izecksohni* Ribeiro, Alves, Haddad & Reis, 2005; *B. leopardus*, Ribeiro, Firkowski & Pie, 2015; *B. mariaeterezae*, Bornschein, Morato, Firkowski, Ribeiro & Pie, 2015; *B. olivaceus*, Bornschein, Morato, Firkowski, Ribeiro & Pie, 2015; *B. pernix* Pombal Jr, Wistuba & Bornschein, 1998; *B. pombali* Alves, Ribeiro, Haddad & Reis, 2006; *B. quiririensis* Pie & Ribeiro, 2015; *B. tridactylus* Garey, Lima, Hartmann & Haddad, 2012 e *B. verrucosus*, Ribeiro, Firkowski, Bornschein & Pie, 2015 (SEGALLA *et al.*, 2016; FROST, 2016)], apresentam colorações geralmente vibrantes, corpo “bufoniforme”, ausência de hiperossificação do esqueleto e distribuição geográfica restrita a regiões de encosta em altitudes elevadas e topos de morros (CLEMENTE-CARVALHO *et al.*, 2009; PIE *et al.*, 2013; BORNSCHEIN *et al.*, 2016a).

A recente descoberta de nove espécies de sapinhos-pingo-de-ouro para a região sul da Serra do Mar e Vale do Itajaí (RIBEIRO *et al.*, 2015; PIE & RIBEIRO, 2015; BORNSCHEIN *et al.*, 2016b), nos estados de Paraná e Santa Catarina, vem aumentando a atenção para esse grupo de espécies. Isso também ficou evidente com a descrição do primeiro sapo-pulga nessa região, *Brachycephalus sulfuratus* Condez, Monteiro, Comitti, Garcia, Amaral & Haddad, 2016, com amplitude geográfica desde o sul de São Paulo até Santa Catarina. Dessa forma, explorar áreas desconhecidas para preencher lacunas de ocorrência de *Brachycephalus* é crucial para o entendimento da distribuição e taxonomia desses organismos.

CONCLUSÕES

- Novas populações de *Brachycephalus* foram encontradas nos municípios de Garuva, Itapoá e São Francisco do Sul, no nordeste de Santa Catarina.
- Uma nova espécie de sapinho-pingo-de-ouro [*Brachycephalus* sp. (aff. *pernix*)] encontra-se em processo de descrição taxonômica, e constitui o primeiro registro de ocorrência deste grupo de espécies em áreas de baixa altitude.
- Ao investigar a distribuição de *Brachycephalus* sp. (aff. *pernix*) foram descobertas populações próximas geograficamente que apresentam alta homogeneidade entre suas sequências de DNA analisadas, mas claramente são diferenciadas fenotipicamente, apresentando colorações que variam de crípticas a conspícuas.
- O grupo de espécies de *B. pernix* foi analisado para fins comparativos e a literatura relacionada, bem como as descrições originais destas espécies, apresentaram diversas inconsistências, ressaltando a necessidade de uma revisão taxonômica.
- Até o momento, não há evidências suficientes para afirmar que as diferentes populações de *Brachycephalus* encontradas tratam-se de uma mesma espécie, ou se há mais de uma espécie sob análise na região.
- Novos estudos moleculares e uma maior amostragem devem auxiliar na resolução de problemas taxonômicos e na identidade das populações *Brachycephalus* sp. (aff. *pernix*) encontradas.
- Os resultados deste trabalho contribuem para um melhor entendimento da distribuição geográfica e altitudinal do gênero *Brachycephalus*, bem como auxiliam na compreensão da sua história evolutiva, taxonômica e ecológica.