

# RESSALVA

Atendendo solicitação da  
autora, o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 19/07/2021.

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(ZOOLOGIA)

---

VARIAÇÃO GENÉTICA E MORFOLÓGICA DAS ESPÉCIES DE *THOROPA*  
COPE, 1865 (ANURA: CYCLORAMPHIDAE)

ARIADNE FARES SABBAG

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

Rio Claro, SP  
Julho - 2019

ARIADNE FARES SABBAG

**VARIAÇÃO GENÉTICA E MORFOLÓGICA DAS ESPÉCIES  
DE *THOROPA* COPE, 1865 (ANURA: CYCLORAMPHIDAE)**

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

Orientador: Dr. Célio F. B. Haddad  
Co-orientadores: Dra. Maria Tereza  
Chiarioni Thomé e Dr. Taran Grant

Rio Claro, SP  
Julho – 2019

S114v Sabbag, Ariadne Fares  
Variação genética e morfológica das espécies de  
Thoropa Cope, 1865 (Anura: Cycloramphidae) / Ariadne  
Fares Sabbag. -- Rio Claro, 2019  
202 p. : il., tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista  
(Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro  
Orientador: Célio Fernando Baptista Haddad

1. Anuros. 2. Filogenética. 3. Taxonomia. 4.  
Morfologia. 5. Morfometria. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do  
Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA TESE: VARIAÇÃO GENÉTICA E MORFOLÓGICA DAS ESPÉCIES DE THOROPA COPE,  
1865 (ANURA: CYCLORAMPHIDAE)

**AUTORA: ARIADNE FARES SABBAG**

**ORIENTADOR: CELIO FERNANDO BAPTISTA HADDAD**

**COORIENTADORA: MARIA TEREZA CHIARIONI THOMÉ**

**COORIENTADOR: TARAN GRANT**

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



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

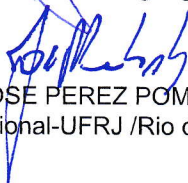


Profa. Dra. CARLA SANTANA CASSINI  
Departamento de Ciências Biológicas / Universidade Estadual de Santa Cruz

Profa. Dra. DENISE DE CERQUEIRA ROSSA FERES  
Departamento de Zoologia e Botânica / UNESP/Câmpus de São José do Rio Preto



Prof. Dr. FABIO RAPOSO DO AMARAL  
Biologia Evolutiva e Filogeografia / Universidade Federal de São Paulo- Campus Diadema



Prof. Dr. JOSE PEREZ POMBAL JUNIOR  
Museu Nacional-UFRJ /Rio de Janeiro-RJ

Rio Claro, 19 de julho de 2019

*Ao meu pai Rubens,  
à minha tia Tera,  
e à minha avó Neid.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeira e principalmente ao Prof. Dr. Célio F. B. Haddad, por ter me orientado e me auxiliado durante todo o desenvolvimento da tese, e por sempre ter sido para mim um exemplo de cientista e administrador. Agradeço também por ele ter me ajudado a desconstruir a minha ilusão da graduação de que um pesquisador bom como ele jamais aceitaria uma aluna ruim como eu.

Aos meus coorientadores escolhidos a dedo, M. Tereza C. Thomé e Taran Grant, pela paciência com meu jeito de trabalhar e/ou pela coragem de enfrentar comigo os desafios do meu jeito de trabalhar. Por me ensinarem uma das coisas que mais admiro em ambos, que é o critério científico. Especialmente à M. Tereza C. Thomé que tem me ensinado, entre outras tantas coisas, o equilíbrio entre o critério e a produção.

Aos especialistas membros da banca Fábio R. do Amaral, José P. Pombal Jr., Denise de C. Rossa-Feres, Carla S. Cassini, Luciana A. Fusinato, Boris A. Blotto, Thaís H. Condez, Pedro Paulo G. Taucce e Kaleb P. Gatto por aceitarem colaborar com o progresso do meu trabalho com correções, sugestões e discussões.

Às especialistas membras das minhas bancas de avaliação de projeto, de avaliação de progresso e da qualificação, Carla M. Lopes, Luciana A. Fusinato, Ana Carolina C. Lourenço, Bianca von M. Berneck e Clarisse Palma, por terem me ajudado e me acompanhado por todo o doutorado.

À Mariana L. Lyra e Délio Baêta por terem me ajudado tanto com diversos aspectos dos estudos e dos caminhos, por saberem sobre a minha tese quase tanto quanto eu, e por serem para mim pessoas inspiradoras.

Ao Miguel Vences pelo sequenciamento de Filogenômica Ancorada, à Mariana L. Lyra e Pedro Paulo G. Taucce por me ajudarem com envio de amostras, interpretação e tratamento dos dados.

À Cinthia A. Brasileiro por me ajudar com características das espécies, e me ajudar a delinear exames de gônadas. Ao Rafael Consolmagno por me auxiliar com informações sobre reprodução de *Thoropa taophora*.

Ao Pedro H. Dias por me ensinar quase tudo que sei sobre girinos. À Isabela R. S. Cavalcanti por me ensinar com paciência e fofura sobre histologia. Ao Enio Mattos e ao Phillip Lenktaitis por me acudirem e tirarem minhas dúvidas todas sempre que eu precisava, e por deixarem uma boa Kiss FM sempre disponível.

Aos curadores e gerentes de coleções herpetológicas que perderam horas de seus tempos para me ajudar, mesmo que apenas para informações: Nadya C. Pupin e Célio F. B. Haddad (CFBH); Aline S. Benetti e Taran Grant (MZUSP); Manoela W. Cardoso, Pedro H. M. de S. Pinna, e José P. Pombal Jr (MNRJ e AL-MN); Luciana B. Nascimento (MCNAM); Antonio Mollo Neto, Juliana Lima e Miguel T. Rodrigues (MTR, IB, USP); Bruno Teixeira e Victor G. D. Orrico (MZUESC); Clodoaldo Assis e Renato N. Feio (MZUFV); Isabel de C. C. Marques e Paulo G. A. Garcia (UFMG); Hélio R. da Silva (UFRRJ e EI); Karina R. E. Gomes, Adriana D. da Silva e Luís Felipe de Toledo (ZUEC); Sergio P. de Carvalho e Silva e Marcia R. Gomes (ZUFRRJ); Santiago J. Castroviejo-Fisher e Glaucia M. F. Pontes (MCP); Cristiano B. Ferreira e Denise de C. Rossa-Feres (DZSJRP); Juliana P. Silva e Fernanda Lirio (MBML); Ariovaldo A. Giaretta e Thiago R. de Carvalho (AAG-UFU); Roy McDiarmid, Rayna Bell, Kenneth Tighe, Robert Wilson, Addison Wynn, Christina K. Sami, Esther Langan, Steve Gotte (USNM); David Kizirian, David Dickey, Lauren Vonnahme (AMNH); Lauren Scheinberg (CAS); Kaylin Martin e Stephen P. Rogers (CMNH); Alan Resetar (FMNH); Rafe Brown, Richard E. Glor e Luke Welton (KUMNH); José Rosado (MCZ); Jimmy A. McGuire e Carol L. Spencer (UC); Jonathan A. Campbell e Carl J. Franklin (TNHC); Dan Rabosky e Greg Schneider (UM-LSA); Patrick Semal e Olivier S. G. Pauwels (IRSNB); Annemarie Ohler (MNHN); Georg Gassner e Silke Schweiger (NMW); Daniel K. Johansson (ZMUC); Maria Rita S. Pires e Paula S. Barbosa (UFOP); Márcio B. Martins e Diego J. Alvares (UFRGS); Marcelo F. Napoli (UFBA); Ana T. Carvalho-e-Silva (UNIRIO); Yvonne Schaarschmidt e Melita Vamberger (SNSD).

Aos órgãos governamentais SISBio-ICMBio (MMA), IEMA (ES), IEF (MG), COTEC-IF (SP), INEA (RJ) e SMAC (Rio de Janeiro, RJ) pelas licenças federais e estaduais concedidas para coleta. E ao Comitê de Ética no Uso Animal pela aprovação do projeto.

Aos colegas cientistas que me ajudaram com estatística, análises, informações, coletas, tecidos, exemplares, fotografias e canto: Luiza Cholak, Classius de Oliveira, Felipe S. F. Leite, Hans Thomassen, Fernando Leal, Renato N. Feio, Amanda L. Santiago, Ana Carolina C. Lourenço, Carla M. Lopes, Délio Baêta, Kelly Zamudio, Thaís H. Condez, Fábio P. de Sá, Marcus Thadeu Santos, Ana Paula V. Motta, Anyelet V. Aguilar, Paulo D. P. Pinheiro, Thiago R. de Carvalho, Boris A. Blotto, Priscila A. Lemes, Leo R. Malagoli, Natalia Salles, Luciana Ramos, Juliane P. Monteiro, Nadya C. Pupin, Gustavo Colaço, Tiago L. Pezutti.

Ao meu cunhado adorado Luiz Carlos Irber Jr, por me ajudar com inúmeros problemas computacionais, de bioinformática e por me ensinar Python. À minha irmã Stéfanie F. Sabbag,

um dos meus pilares existenciais, e certamente uma das pessoas mais inteligentes que eu conheço, por me ajudar com todas minhas dúvidas sobre arte e diagramação.

Aos colegas, familiares e amigos que me deram teto e afeto em viagens de trabalho: Vivian Saad, Soudki Saad, Felipe Saad, Nadia El Hage, Roberto Sabbag, Janailma Freire, Victor G. D. Orrico, Carla S. Cassini, Amanda L. Santiago, Ana Carolina C. Lourenço, Daniel Moraes, Manoela W. Cardoso, Rafael Silva, Luciana Ramos, Angele Martins, Pedro Peloso, Silvia Pavan, Roy McDiarmid e Grace Wyngaard.

Aos grandes amigos nascidos da herpetologia, alguns dos quais me acompanharam por todo o doutorado e que eu não vou deixar em paz tão cedo: Nadya C. Pupin, Julián Faivovich, Eliziane G. de Oliveira, Danilo Delgado, Mariana L. Lyra, Maria Tereza C. Thomé, Juliane P. Monteiro, Marina W. Faria, Bianca von M. Berneck, Boris Blotto, Carla M. Lopes, Ana Carolina C. Lourenço, Priscila Lemes, Lucas N. Bandeira, Carla S. Cassini, Victor G. D. Orrico, Amanda Lantyer Silva, Thaís H. Condez, Fábio P. de Sá e Leo R. Malagoli.

Aos queridos amigos do laboratório, que fazem parte da melhor equipe de trabalho que eu poderia desejar durante o doutorado: Mariana L. Lyra, Maria Tereza C. Thomé, Nadya C. Pupin, Bianca von M. Berneck, Boris Blotto, Carla M. Lopes, Ana Carolina C. Lourenço, Priscila Lemes, Eliziane G. de Oliveira, Danilo Delgado, Paulo D. P. Pinheiro, Kaleb P. Gatto, Pedro Paulo G. Taucce, Thaís H. Condez, Juliane P. Monteiro, Marcus Thadeu Santos, Natalia Salles, Francisco Brusquetti, João G. Giovanelli, Amanda L. Santiago, Anyelet V. Aguiar, Ana Paula M. Vieira, Fábio Perin de Sá, Leo R. Malagoli, Luiza Cholak, Suélen Mello, Olívia Araújo e Katyuscia de A. Vieira.

Aos integrantes do Laboratório de Anfíbios do IB, USP, que sempre me receberam muito bem: Adriana M. Jeckel, Gabriel J. Cohen, Raquel Montesinos, Isabela R. S. Cavalcanti, Denis J. Machado, Jhon J. O. Sarria, Marvin A. Criollo, Marco A. Rada, Rafael dos S. Henrique, Carola A. M. Yovanovich, Mariane Targino, Pedro H. Dias.

Aos colegas e professores do DIBSI 2017, pelo ótimo curso de bioinformática básica, principalmente Titus Brown, Luís Carlos Irber Jr, Amanda Lantyer Silva, Andrés Brunetti, Adriano Mondini e Juan Sousa. E à Stéfanie F. Sabbag por cuidar da gente por todo o tempo de curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo número 141454/2015-6), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Programa BIOTA – Temático, número 13/50741-7) e Smithsonian Institute pelas bolsas e auxílios concedidos. À Mary Sangrey, Meredith Price e Gordon Bullock por me ajudarem com

burocracias diversas. Ao CEIS pelo apoio com coleta de dados molecular, e à Seção Técnica de Pós-Graduação da UNESP por sempre me ajudar com diversos problemas.

Ao John Carlos por me ajudar com inglês.

Aos profissionais excelentes que suportaram meus problemas mentais por todos esses anos: Larissa F. Fares, Elias Ajub, e principalmente Hélio Hoshina.

À minha querida mãe, Janete Aparecida Fares, que sempre me apoiou mesmo não confiando na minha escolha profissional, mas que atualmente até sabe o que é uma *Pipa*.

Aos meus melhores amigos, com quem eu adoraria conviver mais, por todo apoio que sempre me deram e simplesmente por existirem: Clara Di Martino, Priscila A. Rossi, Luiz Fernando C. Coradello, Luana Hortenci, Xênia M. Lopes, Rafaela Sanfelice, Erico P. Felix, Andréia N. Figueiredo, Aline G. Zaffani, Rafael Lemes, Gisele Vieira, Mariana Bissoli, Renata Tardivo, Pavel Dodonov, Jonas E. Gallão, Alois F. Müller, Jefferson Mercadante, Daniela M. D. Gayotto, Tylá P. Duarte, Gabriela Sumariva, Roger Fernandes, Heitor Savala, Bruno H. de Mello, Fabiano Benini, Lucas Malakin, Alice Di Martino Félix, João Guilherme Benini. E aos meus novos amigos David Bet, Carol Bet, Klyger Oliveira e Fabíola Bonfá. Ao meu primo Felipe Soudki Saad, por todo o reconhecimento e preocupação comigo. A todos meus tios e primos que adoro, mesmo que a maioria opiniões políticas e sociais completamente diferentes das minhas, em especial Janice Fares, Jaime Fares, Jorge Fares, Gislaine Fusco Fares, Vivian Sabbag Saad, Elisabete Conejo, Astrid Sabbag Mayard Sabbag que mais me apoiam. E à minha nova família que estou adorando conhecer: José Gabriel P. Baêta da Costa, Patrícia Simões Baêta da Costa, Roselene P. Baêta da Costa, Tatiana Arantes, Rosângela B. Baungratz, Luís Baungratz, Marilena V. Baêta da Costa, Alexandre Baêta, Diúde Campos e Délio Baêta da Costa. Aos meus amores peludos: Bertha Lutz, Doris Cochran, Polaco Woitovicz, Ada, Laila, Satine, Beleza, Lillo, Stich, Terror, Susto, Sortudo, Lina, Jimmy, Chica, Gandolfo, Tulipa, Killer, Teca, Izzie, Lin, Laessie, Lili, Star, Shelley, Wendy.

Às cientistas e professoras excepcionais que me empurraram e me puxaram para a herpetologia, e nas quais eu sempre me inspiro: Maria Elina Bichuette, Denise de C. Rossa-Feres e Juliana Zina.

E por fim, ao meu amado Délio Baêta, que esteve comigo em todos os momentos do doutorado (os bons e os ruins), que me aguentou com amor, com e sem paciência, que é para mim um dos melhores herpetólogos que conheço, e de quem tenho um imenso orgulho.

Gratidão a todos!

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

Gostaria de agradecer às pessoas sem as quais essa tese não existiria.

Não apenas porque eu não teria conseguido elaborá-la, mas porque tudo em mim dependeu dos seus ensinamentos.

Quero agradecer a todas as pessoas que me ensinaram algo

Aos que me ensinaram a andar, a falar

A pedir desculpas, a agradecer, a pedir

Aos que me ensinaram a não deixar comida no prato

A guardar o que eu não ia levar no lugar certo

A terminar a tarefa antes de brincar

Aos que me ensinaram a escrever, letra por letra, palavra por palavra

Aos que mesmo sem saber escrever direito, me ensinavam a fazer caligrafia, contas, tarefas

Aos que me ensinaram muito, aos que me ensinaram pouco

Aos que não me deixavam faltar das aulas de inglês, aos que não me deixavam faltar de nada

Aos que me ensinaram matemática, português, história, geografia

Aos que me ensinaram física, química, biologia, literatura, redação, geometria

Aos que me ensinaram pintura, desenho, esportes, dança, inglês, espanhol, francês, música

Aos que me ensinaram violão, teclado, violino, ponto-cruz, culinária

Aos que me ensinaram citologia, embriologia, bioquímica, histologia, zoologia, botânica

Aos que me ensinaram estatística, cálculo, biofísica, fisiologia

Aos que me ensinaram genética, filogeografia, sistemática, anatomia

Aos que me ensinaram autocrítica e autoanálise

Aos licenciados, aos mestres, aos doutores

Aos jovens, aos idosos

Aos equilibrados, aos histéricos

Aos depressivos, aos felizes

Aos que ganhavam bem, aos que ganhavam mal, aos que não ganhavam nada  
Aos que amavam o que faziam, aos que só queriam que aquilo acabasse

Aos que eram amados, aos que só eu amava, aos que nem eu amava  
Aos que me odiavam, aos que me amavam, aos que nem ligavam  
Aos que nem sabiam meu nome, aos que todo ano contavam a origem do meu nome  
Aos que me pediam para ficar quieta, aos que me pediam ajuda  
Aos que me acordavam, aos que me deixavam dormir  
Aos que jamais acreditariam se ouvissem que eu dormia  
Aos que se lembram de mim, ou só do nome, ou só da “carinha”  
Aos que não lembravam nem quando conviviam comigo  
Aos que se orgulhariam de saber que cheguei ao doutorado  
Aos que nem se importariam

Aos que adoraram trabalhar comigo, aos que jamais repetiriam  
Aos que me disseram que não dava tempo, aos que disseram que ainda era pouco  
Aos que me puseram limites, aos que quiseram que eu os superasse

Aos que me ensinaram, mesmo sem perceber, que é preciso encontrar um equilíbrio  
Entre a contextualização e a extrapolação  
Entre a compreensão e a expressão  
Entre a argumentação e a decisão

Eu não chegaria aqui sem eles, o que quer que seja o “aqui”  
Eles estão aqui por todos os lados, em mim, na minha história, na minha tese  
Em cada pequeno erro, em cada pequeno acerto  
Em cada letra bem colocada, em cada palavra bem escrita, em cada crase mal-usada  
Em cada conceito aprendido, em cada conceito confundido

Agradeço a todos que quiseram me ensinar, que tentaram me ensinar, que foram obrigados a  
me ensinar, ou aos que nem sabem o quanto me ensinaram  
Agradeço a todos aqueles que são tantos, e com tantos feitos, que não cabem em uma arte  
malfeita, em uma lista improvisada ou em uma memória mediana  
Tampouco cabem em uma tese, mas são a tese

Agradeço a todos eles que poderiam ser outros, e poderia dar no mesmo  
Mas foi no somatório de seus feitos que eu surgi, tal qual sou hoje  
E não trocaria eles por quaisquer outros  
Qualquer orgulho que eu possua do meu tenro caminho acadêmico é na verdade orgulho deles  
Orgulho de ter tido eles como tutores, professores, orientadores  
Orgulho que se confunde com gratidão, porque é gratidão  
Gratidão imensurável e indescritível  
Sou muitíssimo grata a todos eles, por tudo o que sou, por tudo o que fiz, por tudo que posso  
ser.

Espero um dia ser para alguém pelo menos um pouco do que foram para mim!

Janete A. Fares Kubens G. Sabbag Reid N. Fares Sousa J. Souza Gislaine F. Fares  
Constantina G. Sabbag Janice Fares Viviana P. Saad Zenia C. Sabbag  
Stefanie F. Sabbag Jaime Fares Mayara Sabbag Daisy N. Sabbag  
Ali Fares Jamil Fares Sidney Sabbag Astrid Sabbag Jorge Fares  
Luiz Carlos Inber Jr. Sueli G. Fares Felipe S. Saad Lucinda Fares  
Celia P. Miller Cláudia Sabbag Elisabete Cenejo Soudki Saad Saleh Fares  
Yolanda Kenaud Ahmed Fares Ana N. Fares Jurie Maluli Wagner P. Miller  
Silvia M. P. Norette Adeline Silveira Mauro C. Miller Noemi Klafke  
Regina Iglesias Eda Franca Marisa Silveira Marco A. F. Jesus  
Abelardo B. Kica Maria F. Paula Virginia Rosaldo Maurício A. Kamiani  
Jose Luis Alvarez Luiz Fernando Marchesin Walter Farath Jr. Katia Pellegrino  
Marsilene F. Queiroz Marcia F. S. Guimarães Nilza R. F. C. Lima Joel Vieira  
Maryd. B. Leugi M. Zélia Beato Lucia M. R. R. Vieira Hernani N. F. Jr.  
Adalberto A. Gonçalves Silvia S. Bednarski Mara C. B. S. Freitas Roberto Ferrari  
Jose Wagner Machado Vera L. G. Kacanichki Reinaldo U. Souza Jr.  
Cláudia M. B. S. Ravelli Antonio J. Aydar Antonieta M. Mercato John C. Karpinsky  
Marli P. K. Camargo Darcilia A. Falco Paulo R. Castelli Celia C. Egea  
Maria Luiza S. Teixeira Valéria B. N. Perissini Jania Pellegrino M. Aparecida A. Tridico  
M. Fatima R. S. Narciso Eliete F. J. Reis M. Auxiliadora Martins Idion N. Filho  
M. Eliete Facomini Alda R. S. Pizzini Alcio Caetano Rodrigo Jair Vieira  
Adaumir K. Castro Pedro A. Neto Antenor Godoy Marcel Augusto  
Marcelo Pia Alexandry S. Margal Quizia Cass Romando A. L. Vieira Jose R. Verani  
Gilberton Moraes Pedro N. Galatti Jr. Alaide A. F. Gersner Kalva M. S. Matos  
Marco A. Del Lama Reinaldo C. A. A. Brito Flavio H. Silva Marisa N. Fernandes  
Vete Rocha Alberto C. Pret Norman Portari Orlando M. Filho Marco Anduin  
Alexandre K. Oliveira Marcelo Fernandes Carlos L. B. A. Prado Susana T. Strixino  
Angélica M. P. M. Dias M. Inês S. Lima Julio C. Garavello Carlos R. Souza Silva  
Swak M. Moura Mirna L. R. Selguim Manoel M. R. Filho Keico O. Nonaka  
M. Elina Buchette Marco A. Batalha Ana L. Kalinin Francisco J. Kantin  
Juliana Zina Cristiano S. Neto Marcel O. Nonaka Vanias K. Resende Cyril Bernard  
Helio Y. Hoshina M. Terza N. N. Manuwr Fabio R. Amaral Carla M. Lopes  
Bianca V. M. Bornick Luis M. Giason Kelly R. Zamudio Milton Ribeiro Jaram Grant  
Cinthia A. Brasileiro Victor G. D. Arrico Thais H. Condez Clarisse Palma  
Julian Javovich Mariana L. Lyra A. Cardinal L. Lourenço Selma M. A. Santos  
M. Terza C. Thomé Cynthia R. A. Prado Mauro G. Rodrigues Luciana A. Fusinato  
Helio Baeta Marco A. Pizo Jose P. Guadanucci Thiago Carvalho Celio F. B. Haddad

## RESUMO

*Thoropa* Cope, 1865 (Anura: Cycloramphidae) é um gênero de rãs endêmicas do domínio Mata Atlântica e de ecótonos associados. Possui atualmente seis espécies (*T. miliaris*, *T. petropolitana*, *T. taophora*, *T. lutzi*, *T. megatympanum* e *T. saxatilis*), divididas em dois grupos morfológicos: grupo petropolitana (*T. petropolitana* e *T. lutzi*) e grupo miliaris (*T. miliaris*, *T. taophora*, *T. megatympanum* e *T. saxatilis*). Todas as espécies se reproduzem e se desenvolvem em rochas molhadas de água doce, encontradas em afloramentos rochosos, cachoeiras e riachos. Um estudo recente sobre a filogenia molecular mostrou que *T. miliaris* é parafilética a *T. taophora*, e que *T. taophora*, *T. megatympanum* e *T. saxatilis* são monofiléticas com alto suporte (Sabbag et al. 2018). Esse estudo também encontrou diversos clados dentro de cada uma das espécies, especialmente em *T. miliaris*. Porém, não foi possível estudarem molecularmente as espécies do grupo petropolitana porque existe apenas uma amostra de DNA disponível para o grupo. No presente trabalho, estudamos aspectos genéticos e morfológicos das seis espécies do gênero a fim de investigar a diversidade molecular previamente encontrada, a parafilia de *T. miliaris* e as características morfológicas das espécies que coincidam com a diversidade genética conhecida. Encontramos que os clados conhecidos de *T. miliaris* são linhagens evoluindo separadamente e que os clados conhecidos de *T. taophora* fazem parte de uma linhagem única. *Thoropa miliaris* e *T. taophora* são reciprocamente monofiléticas. Também encontramos que a diversificação desse complexo de espécies parece ter ocorrido muito mais tarde do que havia sido publicado. As espécies do grupo petropolitana possuem algumas diferenças morfológicas externas em adultos e larvas que permite distingui-las do grupo miliaris. Dentro do grupo miliaris é possível distinguir *T. megatympanum* e *T. saxatilis*, embora com poucas características diagnósticas. Dentro do complexo *T. miliaris* + *T. taophora*, entretanto, não encontramos características morfológicas que coincidam com a diversidade genética conhecida e tampouco pudemos diferenciar as duas espécies válidas. Fizemos também uma revisão taxonômica de *T. petropolitana* com a designação de um neótipo.

Palavras-chave: delimitação de espécies, Filogenômica Ancorada, linhagens, anfíbios, Mata Atlântica, Campo rupestre, caracteres externos, anuros adultos, girinos, taxonomia

## ABSTRACT

*Thoropa* Cope, 1865 (Anura: Cycloramphidae) is a frog genus endemic to the Atlantic forest domain and associated ecotones. It comprises six species (*T. miliaris*, *T. petropolitana*, *T. taophora*, *T. lutzi*, *T. megatympanum* and *T. saxatilis*), divided in two morphological groups: petropolitana group (*T. petropolitana* and *T. lutzi*) and miliaris group (*T. miliaris*, *T. taophora*, *T. megatympanum* and *T. saxatilis*). All the species reproduce and develop in freshwater wet rocks that can be found in rock outcrops, waterfalls and streams. A recent study on molecular phylogeny has shown that *T. miliaris* is paraphyletic in respect to *T. taophora* and that *T. taophora*, *T. megatympanum* and *T. saxatilis* are monophyletic with high support. This study also found many clades inside each of those species, especially within *T. miliaris*. Nevertheless, it was not possible to study molecular aspects of the petropolitana group because there is only one DNA sample available for the group. In this work, we studied genetic and morphological aspects of all six species of the genus in order to investigate the molecular diversity found previously, the paraphyly found for *T. miliaris*, and the species morphological characteristics that coincide with the known genetic diversity. We found that the known clades of *T. miliaris* are separately evolving lineages and that the clades of *T. taophora* are part of a whole lineage. *Thoropa miliaris* and *T. taophora* are reciprocally monophyletic. We also found that the diversification of this species complex seems to have happened much later than previously known. The species of petropolitana group possesses some external morphological differences in adults and larvae that allow them to be separated from species of the miliaris group. Within miliaris group it is possible to distinguish *T. megatympanum* and *T. saxatilis* although with few diagnostic characteristics. Inside the complex *T. miliaris* + *T. taophora*, however, we could not find morphological characteristics that coincide with the known genetic diversity, neither we could differentiate the two valid species. We also did a taxonomic review of *T. petropolitana* with a neotype designation.

Keywords: species delimitation, Anchored Phylogenomics, lineages, amphibians, Atlantic forest, external characters, adult anurans, tadpoles, taxonomy

# SUMÁRIO

Introdução geral.....	16
Referências bibliográficas.....	23
<b>Capítulo 1: Estrutura genética de populações sintópicas e simpátricas do complexo de <i>Thoropa miliaris</i> (Spix, 1824) e <i>Thoropa taophora</i> (Miranda-Ribeiro, 1923) (Anura: Cycloramphidae).....</b>	<b>26</b>
Abstract.....	26
Resumo.....	26
Introdução.....	27
Material e métodos.....	30
Amostragem.....	30
Extração de DNA total e obtenção dos marcadores moleculares.....	30
Tratamento dos dados e análises.....	31
Estrutura populacional segundo o genoma nuclear.....	31
Relacionamentos filogenéticos.....	34
Estimativas de fluxo gênico.....	34
Delimitação de linhagens.....	35
Relógio molecular.....	37
Resultados.....	38
Estrutura populacional segundo o genoma nuclear.....	38
Relacionamentos filogenéticos.....	38
Estimativas de fluxo gênico.....	42
Delimitação de linhagens.....	44
Relógio molecular.....	45
Discussão.....	46
Estrutura populacional e relações filogenéticas.....	47
Relações filogenéticas.....	50
Fluxo gênico.....	51
Delimitação de espécies e taxonomia.....	52
Relógio molecular.....	53
Biogeografia e conservação.....	54
Conclusões.....	55
Referências bibliográficas.....	55
<b>Capítulo 2: Variação morfológica das espécies de <i>Thoropa</i> Cope, 1865 (Anura: Cycloramphidae).....</b>	<b>61</b>
Abstract.....	61
Resumo.....	61
Introdução.....	62
Caracteres sexuais secundários.....	62
Diagnoses específicas e hipótese filogenética.....	64
Material e métodos.....	65
Espécimes.....	65
Associação às linhagens.....	69
Presença de espermatozoides e caracteres sexuais secundários.....	69
Morfologia externa de adultos e larvas.....	73
Coloração e desenho.....	73
Morfometria de adultos e contagens de papilas.....	73
Análises estatísticas.....	74
Resultados.....	76

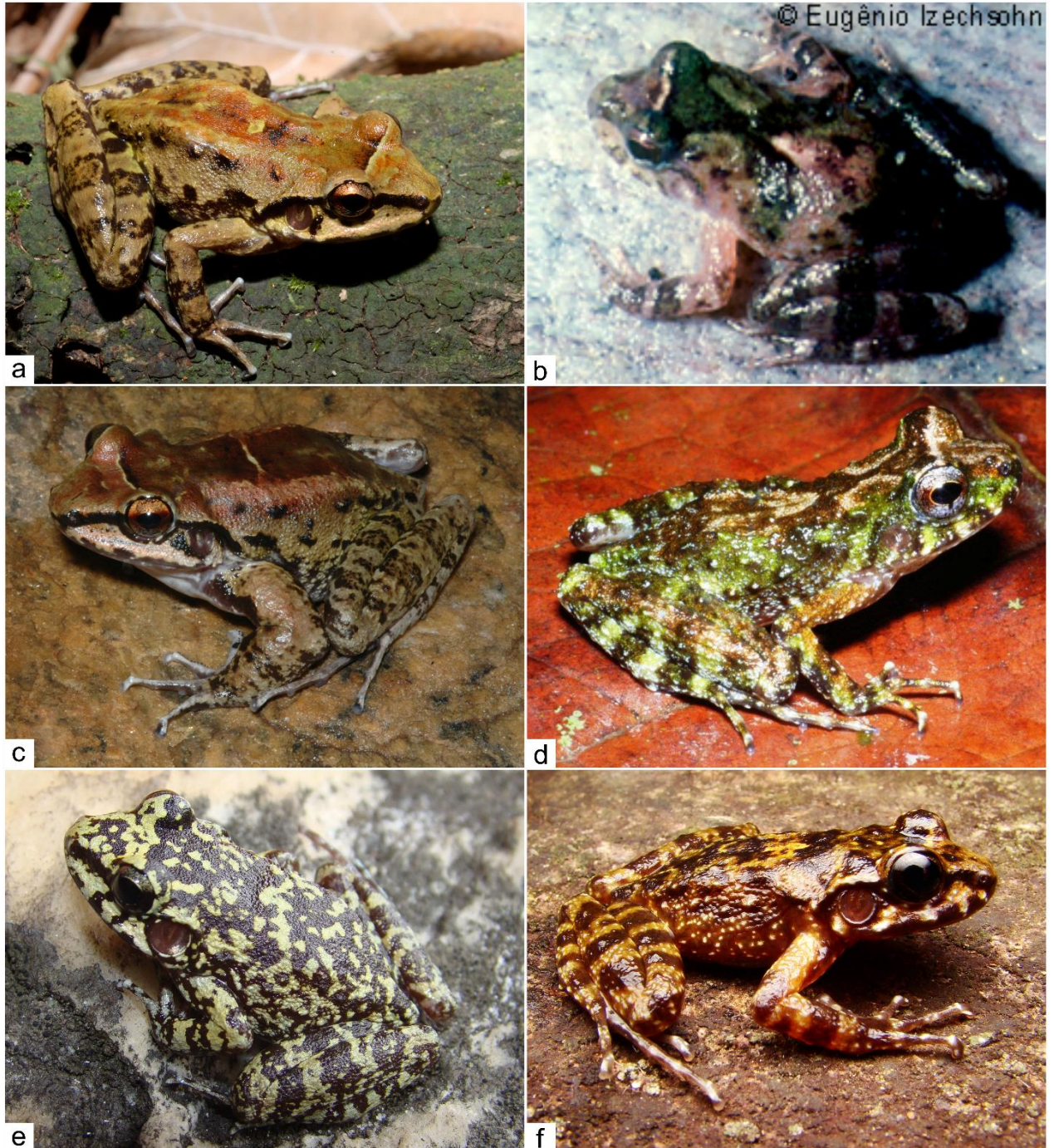
Associação às linhagens.....	76
Presença de espermatozoides e caracteres sexuais secundários.....	77
Morfologia externa de adultos e larvas.....	83
Coloração e desenho.....	98
Morfometria de adultos.....	108
Discussão.....	126
Associação às linhagens.....	126
Machos adultos e desenvolvimento das almofadas nupciais.....	126
Morfologia externa de adultos e larvas.....	127
Morfometria de adultos.....	128
Conclusões.....	130
Referências bibliográficas.....	131
<b>Capítulo 3: Designação do neótipo de <i>Thoropa petropolitana</i> (Wandolleck, 1907) (Anura: Cycloramphidae).....</b>	<b>135</b>
Abstract.....	135
Resumo.....	135
Introdução.....	135
Histórico taxonômico.....	136
Material e métodos.....	139
Espécimes.....	139
Caracteres morfológicos.....	140
Resultados.....	141
Descrição do neótipo de <i>Thoropa petropolitana</i> (Wandolleck, 1907).....	141
Síntipos.....	142
Neótipo.....	142
Diagnose.....	142
Descrição do neótipo.....	142
Medidas do neótipo.....	145
Coloração em vida.....	145
Coloração em álcool.....	146
Sinonímia de <i>Eupsophus fuliginosus</i> a <i>Thoropa petropolitana</i> .....	146
História natural.....	148
Canto.....	148
Variação.....	148
Larvas.....	150
Distribuição geográfica.....	153
Discussão.....	153
Referências bibliográficas.....	157
Considerações finais e perspectivas futuras.....	162
Limites entre espécies.....	162
Biogeografia e conservação.....	163
Referências bibliográficas.....	165
Apêndices.....	167
Referências bibliográficas.....	186
Anexo 1.....	187

## INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Thoropa* Cope, 1865 (Amphibia: Anura: Cycloramphidae) é um grupo de rãs que ocorre exclusivamente no Brasil no domínio da Mata Atlântica (*sensu* Ab'Sáber 1977) e no campo rupestre (Silveira et al. 2016), da Bahia até o Rio Grande do Sul, com exceção do Paraná. Vivem e se reproduzem em afloramentos rochosos úmidos, como cachoeiras, quedas d'água, formações rochosas com água doce ou pedras em riachos de vazão baixa (Bokermann 1965; Caramaschi e Sazima 1984; Cocroft e Heyer 1988; Feio et al. 2006), em geral expostos ao sol (Giaretta e Facure 2004; Consolmagno et al. 2016).

A história natural das espécies de *Thoropa* é parcialmente conhecida. Todas as espécies do gênero reproduzem-se nesses filmes de água doce que escorrem sobre rochas, onde as fêmeas depositam os ovos e onde os girinos exotróficos semiterrestres se desenvolvem (Barth 1956; Bokermann 1965; Heyer e Crombie 1979; Giaretta e Facure 2004; Haddad e Prado 2005). Os machos de algumas espécies do gênero são conhecidos por serem territoriais (*T. miliaris*, *T. petropolitana*, e *T. taophora*), poligínicos (*T. taophora*) e cuidarem da desova (*T. petropolitana* e *T. taophora*) (Heyer e Crombie 1979; Giaretta e Facure 2004; Muralidhar et al. 2014; Consolmagno et al. 2016). Em termos de dieta, as espécies de *Thoropa* são generalistas, se alimentando de diversos grupos de invertebrados (Bokermann 1965; Siqueira et al. 2006), especialmente formigas (Brasileiro et al. 2010). Em populações litorâneas, invertebrados marinhos (e.g. *Ligia oceanica*) constituem importantes itens alimentares (Sazima 1971; Brasileiro et al. 2010), o que evidencia a tolerância dessas populações a ambientes de salinidade elevada (Abe e Bicudo 1991).

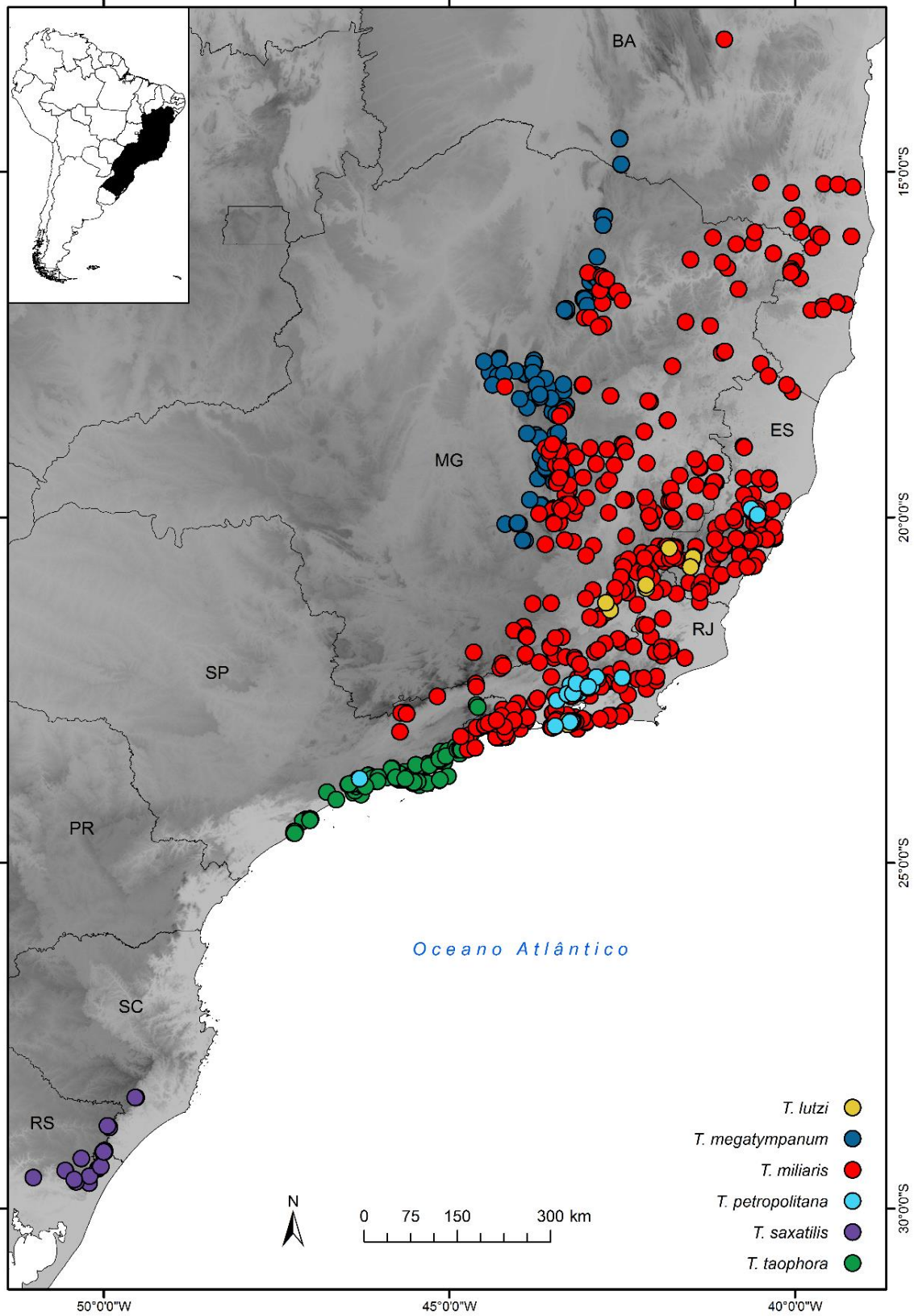
*Thoropa* contém seis espécies válidas: *T. miliaris* (Spix, 1824), *T. petropolitana* (Wandolleck, 1907), *T. taophora* (Miranda-Ribeiro, 1923), *T. lutzii* Cochran, 1938, *T. megatympanum* Caramaschi e Sazima, 1984 e *T. saxatilis* Cocroft e Heyer, 1988 (Figura 1). *Thoropa lutzii* e *T. petropolitana* formam o chamado grupo *petropolitana* e as restantes fazem parte do grupo *miliaris* (Sabbag et al. 2018).



**Figura 1:** Espécies válidas do gênero *Thoropa*. (a) *T. miliaris*, Santa Teresa, ES, foto de J. P. Pombal Jr; (b) *T. petropolitana*, Teresópolis, RJ, foto de Eugênio Izechson; (c) *T. taophora*, Ubatuba, SP, foto de Célio F. B. Haddad; (d) *T. lutzi*, Mimoso do Sul, ES, foto de João L. Gasparini; (e) *T. megatympanum*, Botumirim, MG, foto de Fernando Leal; e (f) *T. saxatilis*, São Francisco de Paula, RS, foto de Patrick Colombo.

Com exceção de *T. saxatilis*, as espécies de *Thoropa* do grupo *miliaris* ocorrem em abundância. *Thoropa miliaris* e *T. taophora* habitam desde costões rochosos no nível do mar até cachoeiras e afloramentos rochosos a cerca de 1500 m de altitude. *Thoropa miliaris* é a espécie com distribuição mais ampla, sendo conhecida para os estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais e sul e sudeste do estado da Bahia (Feio et al. 2000, 2006) (Figura 2). *T. taophora*, por outro lado, apresenta distribuição restrita à Serra do Mar e litoral do estado de São Paulo (Maxson e Heyer 1982; Feio et al. 2006) (Figura 2). *Thoropa megatympanum* ocorre no campo rupestre (*sensu* Silveira et al. 2016), que localiza-se em um ecótono de Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica na Cadeia do Espinhaço (Silveira et al. 2016), no estado de Minas Gerais e centro-sul da Bahia (Leite et al. 2008; Sabbag et al. 2018) (Figura 2).

Das seis espécies do gênero, três se encontram em alguma categoria de ameaça em listas internacionais, nacionais e regionais (Tabela 1), incluindo as contidas no grupo *petropolitana* (*Thoropa lutzi* e *T. petropolitana*). *Thoropa petropolitana* era conhecida por ocorrer na Serra dos Órgãos, estado do Rio de Janeiro (Figura 2), e permanece sem novos registros desde 1982 apesar de constantes esforços de coleta. *Thoropa lutzi* era conhecida para os arredores da cidade do Rio de Janeiro (Izecksohn e Carvalho-e-Silva 2001), onde é considerada desaparecida, e para as regiões serranas do Espírito Santo e leste de Minas Gerais onde ainda é encontrada (Sabbag et al. 2018) (Figura 2). *Thoropa saxatilis* é restrita ao sul do Brasil e ainda é encontrada nas encostas da Serra Geral, desde Santa Catarina até o Rio Grande do Sul (Cocroft e Heyer 1988) (Figura 2). *T. saxatilis* não é encontrada na localidade tipo desde a descrição, sendo atualmente conhecida de poucas localidades. Uma das hipóteses para o desaparecimento dessas populações e espécies é a redução do ambiente desses animais, causada especialmente pela ação humana. A crescente ação antrópica sobre o domínio da Mata Atlântica já reduziu sua área total a quase 10% da área original (Ribeiro et al. 2009), uma das razões pelas quais ela é considerada há anos como uma área prioritária para a conservação da biodiversidade (Myers et al. 2000).

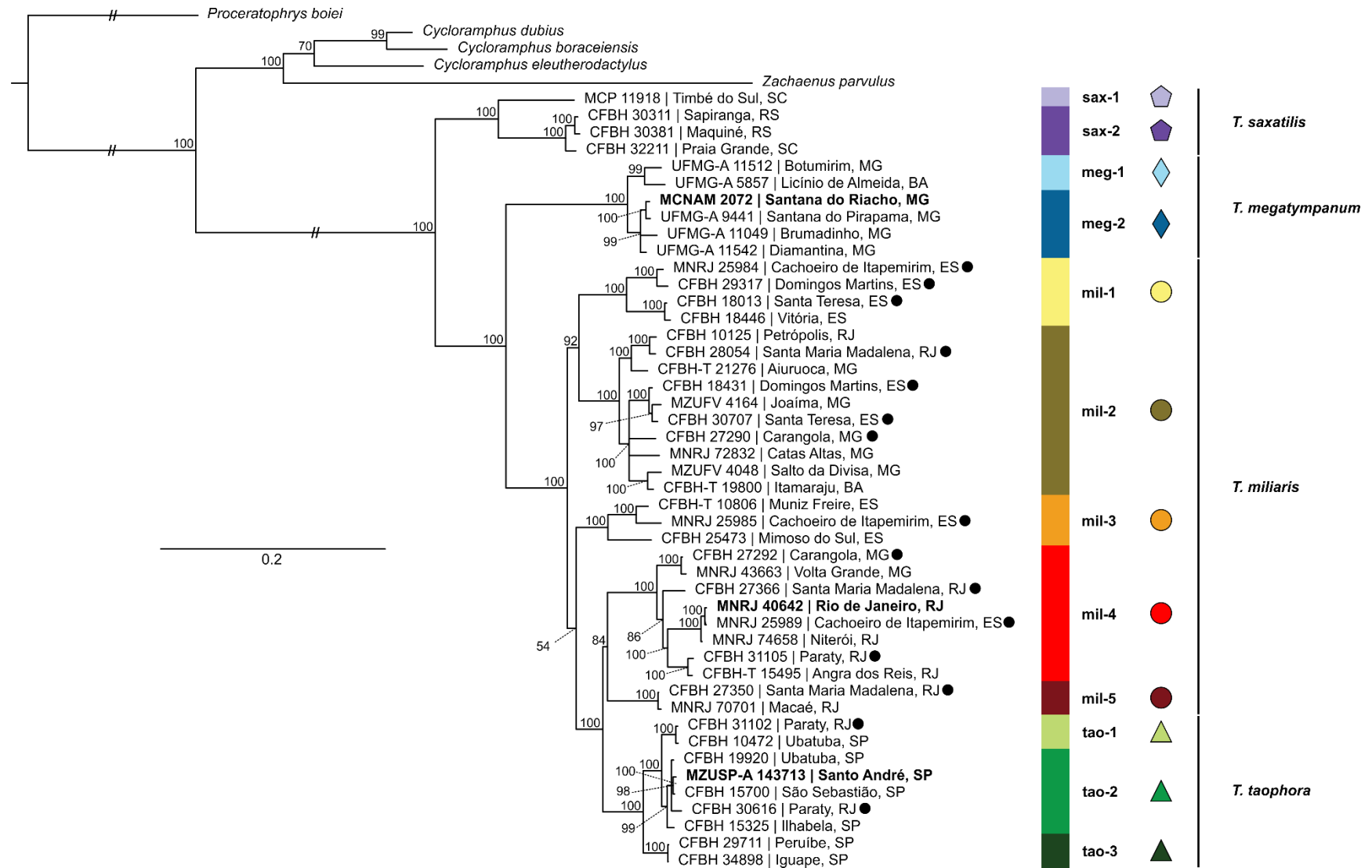


**Figura 2:** Distribuição encontrada para as espécies do gênero *Thoropa* baseada em exemplares analisados nesta tese. Altitude mostrada em escala de cinza, sendo o cinza mais claro representativo do nível do mar.

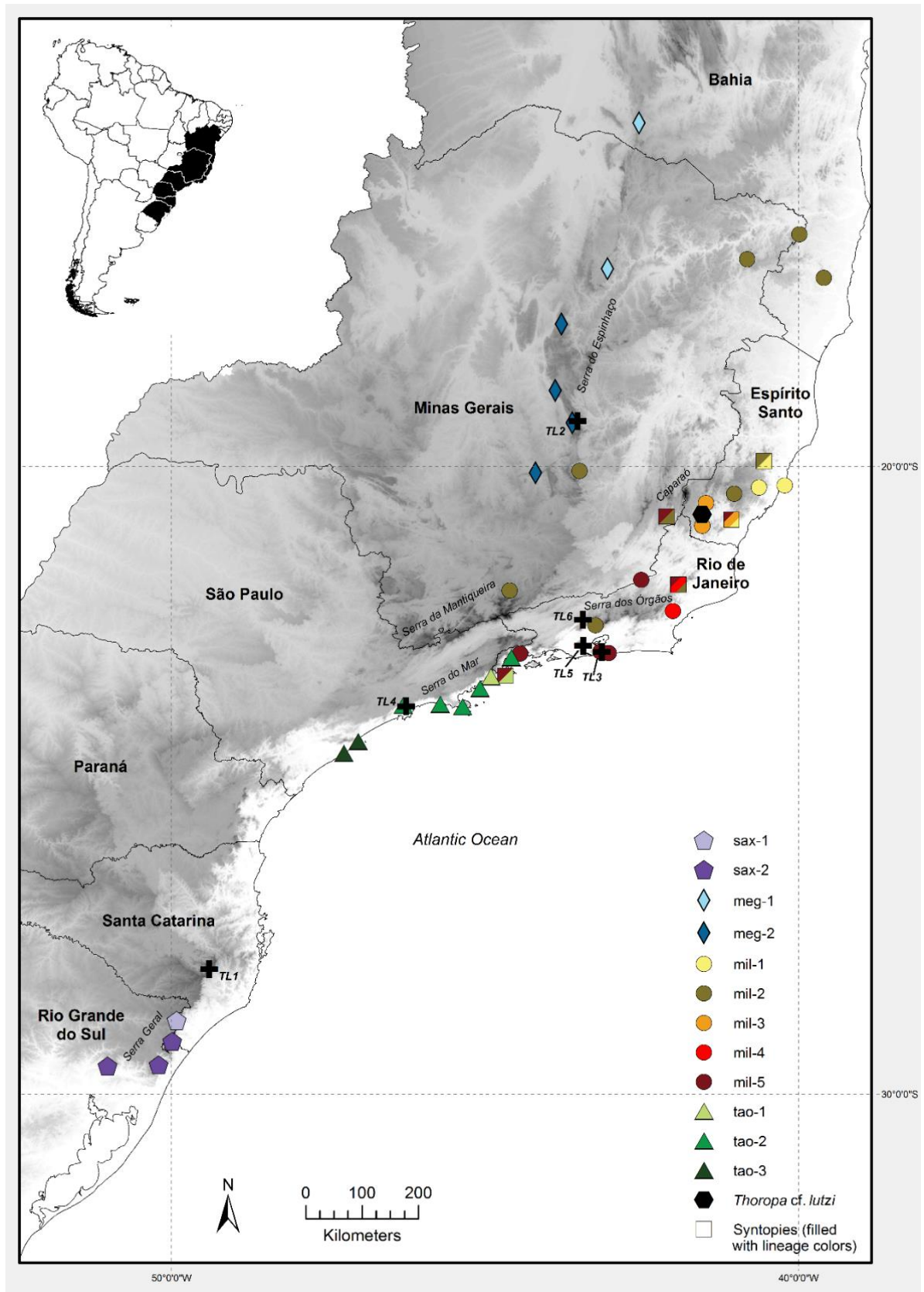
**Tabela 1:** Classificação das espécies de *Thoropa* quanto à categoria de ameaça, na lista internacional (“Global”, Carvalho-e-Silva e Peixoto 2004; Garcia 2004; Garcia et al. 2010; Caramaschi et al. 2010), na lista nacional (ICMBio 2018), e nas listas estaduais, por unidade federativa (IPEMA 2007; Estado de São Paulo 2009; FATMA 2011; Rio Grande do Sul 2014). As categorias seguem a padronização da União Internacional para a Conservação da Natureza (em inglês: *IUCN*), sendo: DD = dados insuficientes; LC = não preocupante; VU = vulnerável; EN = ameaçada; CR = criticamente em perigo. O símbolo “-” é para casos em que a espécie não é conhecida para a unidade federativa e o símbolo “?” é para espécies não mencionadas ou não encontradas em listas. O símbolo “\*” refere-se a uma classificação suposta para *T. taophora* na lista internacional, que é a mesma classificação de *T. miliaris* em razão da sinonímia desfeita por Feio et al. (2006).

Espécie	<i>T. lutzii</i>	<i>T. megatympanum</i>	<i>T. miliaris</i>	<i>T. petropolitana</i>	<i>T. saxatilis</i>	<i>T. taophora</i>
<b>Global</b>	EN	LC	LC	VU	NT	LC*
<b>Nacional</b>	DD	LC	LC	EM	VU	LC
<b>BA</b>	-	?	?	-	-	-
<b>MG</b>	-	?	?	-	-	-
<b>ES</b>	EN	-	?	CR	-	-
<b>RJ</b>	?	-	?	?	-	-
<b>SP</b>	-	-	LC	DD	-	LC
<b>SC</b>	-	-	?	-	CR	-
<b>RS</b>	-	-	?	-	EN	-

A partir de dados moleculares, Sabbag et al. (2018) avaliaram a distribuição da diversidade genética, as relações filogenéticas e os tempos de divergência no grupo *miliaris* (Sabbag et al. 2018) (Anexo 1). Encontraram que as quatro espécies desse grupo possuem subestrutura que varia entre dois e cinco clados por espécie, sendo *Thoropa miliaris* a mais estruturada delas (Sabbag et al. 2018) (Figura 3). Recuperaram o grupo *miliaris* como monofilético, *Thoropa megatympanum*, *T. saxatilis* e *T. taophora* como monofiléticas e *T. miliaris* como parafilética em relação a *T. taophora* (Sabbag et al. 2018) (Figura 3). Clados de *T. miliaris* e *T. taophora* ocorreram em simpatria ou sintopia em algumas localidades, como Paraty e Santa Maria Madalena (RJ), Carangola (MG), Domingos Martins, Cachoeiro de Itapemirim e Santa Teresa (ES) (Sabbag et al. 2018) (Figura 4). Por fim, o relógio molecular utilizado indicou que as espécies iniciaram seu processo de divergência provavelmente no Mioceno (cerca de 30 milhões de anos atrás) sendo que *T. saxatilis* teria sido a primeira a divergir, seguida de *T. megatympanum* que, por sua vez, é irmã do complexo de *T. miliaris* + *T. taophora* (Sabbag et al. 2018).



**Figura 3:** Árvore filogenética de consenso de 50%, elaborada com genes concatenados, obtida por inferência Bayesiana, mostrando os clados internos das quatro espécies de *Thoropa* do grupo *miliaris*. Círculos pretos correspondem a localidades com simpatrias ou sintopias de clados. Os símbolos de cada clado são símbolos servem para a localização no mapa da “Figura 4”. Modificado de Sabbag et al. (2018).



**Figura 4:** Distribuição conhecida dos clados de *Thoropa* do grupo *miliaris*. Os sinais de adição indicam as localidades-tipo das espécies do gênero *Thoropa*, sendo TL1, TL2, TL3, TL4, TL5 e TL6, respectivamente *T. saxatilis*, *T. megatympanum*, *T. miliaris*, *T. taophora*, *T. lutzi* e *T. petropolitana*. Os quadrados indicam as localidades com simpatrias ou sintopias de clados, com cores específicas de cada caso. Retirado de Sabbag et al. (2018). Altitude mostrada em escala de cinza, sendo o branco representativo do nível do mar.

Nesta tese acessamos a variação molecular e morfologia externa de adultos e girinos de *Thoropa* para explorar algumas questões que permaneceram abertas com o trabalho de Sabbag et al. (2018). Nosso primeiro objetivo foi caracterizar a estrutura genética das populações do complexo de *Thoropa miliaris* e *T. taophora*, investigando possíveis hibridações e fluxo gênico entre os clados identificados por Sabbag et al. (2018) (capítulo 1). O segundo objetivo foi averiguar a validade das diagnoses publicadas para as seis espécies do gênero e procurar possíveis características morfológicas coincidentes com o padrão da diversidade genética encontrada no grupo *miliaris* (capítulo 2). Por fim, fizemos uma revisão de *T. petropolitana* para efetivar ajustes taxonômicos pertinentes para essa espécie (capítulo 3).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ab'Sáber, A.N. 1977. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. *Geomorfologia* 1–21.
- Abe, A.S., e J.E.P.W. Bicudo. 1991. Adaptations to salinity and osmoregulation in the frog *Thoropa miliaris* (Amphibia, Leptodactylidae). *Zool. Anz.* 227:313–318.
- Barth, R. 1956. Observações anatômicas sobre a larva de *Thoropa miliaris* (Amphibia, Leptodactylidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 54:489–497.
- Bokermann, W.C.A. 1965. Notas sobre as espécies de *Thoropa* Fitzinger (Amphibia, Leptodactylidae). *An. Acad. Bras. Cienc.* 525–537.
- Brasileiro, C.A., M. Martins, e I. Sazima. 2010. Feeding ecology of *Thoropa taophora* (Anura: Cycloramphidae) on a rocky seashore in Southeastern Brazil. *South Am. J. Herpetol.* 5:181–188.
- Caramaschi, U., L.B. Nascimento, e D. Silvano. 2010. *Thoropa megatympanum*. IUCN Red List Threat. Species
- Caramaschi, U., e I. Sazima. 1984. Uma nova espécie de *Thoropa* da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil (Amphibia, Leptodactylidae). *Rev. Bras. Zool.* 2:139–146.
- Carvalho-e-Silva, S.P. de, e O.L. Peixoto. 2004. *Thoropa petropolitana*. IUCN Red List Threat. Species
- Cochran, D.M. 1938. Diagnoses of new frogs from Brazil. *Proceeding Biol. Soc. Washingt.* 51:41–42.
- Croft, R.B., e W.R. Heyer. 1988. Notes on the frog genus *Thoropa* (Amphibia: Leptodactylidae) with a description of a new species (*Thoropa saxatilis*). *Proc. Biol. Soc. Washingt.* 101:209–220.

- Consolmagno, R.C., G.S. Requena, G. Machado, e C.A. Brasileiro. 2016. Costs and benefits of temporary egg desertion in a rocky shore frog with male-only care. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 70:785–795.
- Cope, E.D. 1865. Sketch of the primary groups of Batrachia s. Salientia. *Nat. Hist. Rev. New series*:97–120.
- Estado de São Paulo. 2009. Fauna ameaçada de extinção no estado de São Paulo - Vertebrados. (P.M. Bressan, M.C.M. Kierulff, e A.M. Sugieda, orgs.). Governo do estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente Fundação Parque Zoológico de São Paulo, São Paulo. 648 pp.
- FATMA. 2011. Lista das espécies da fauna ameaçada de extinção em Santa Catarina. 58.
- Feio, R.N. 2002. Revisão taxonômica do gênero *Thoropa* Cope, 1865 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 217 pp.
- Feio, R.N., F.A. Juncá, e U. Caramaschi. 2000. Geographic distribution: *Thoropa miliaris*. *Herpetol. Rev.* 31:252.
- Feio, R.N., M.F. Napoli, e U. Caramaschi. 2006. Considerações taxonômicas sobre *Thoropa miliaris* (Spix, 1824), com revalidação e redescrição de *Thoropa taophora* (Miranda-Ribeiro, 1923) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arq. do Mus. Nac.* 64:41–60.
- Garcia, P. 2004. *Thoropa saxatilis*. IUCN Red List Threat. Species
- Garcia, P., O.L. Peixoto, e G. Moreira. 2010. *Thoropa miliaris*. IUCN Red List Threat. Species
- Giaretta, A.A., e K.G. Facure. 2004. Reproductive ecology and behavior of *Thoropa miliaris* (Spix, 1824) (Anura, Leptodactylidae, Telmatobiinae). *Biota Neotrop.* 4:1–10.
- Haddad, C.F.B., e C.P.A. Prado. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic forest of Brazil. *Bioscience* 55:207–217.
- Heyer, W.R., e R.I. Crombie. 1979. Natural history notes on *Craspedoglossa stejnegeri* and *Thoropa petropolitana* (Amphibia: Salientia, Leptodactylidae). *J. Washingt. Acad. Sci.* 69:17–20.
- ICMBio. 2018. Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. V-Anfíbios. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Brasília. 131 pp.
- IPEMA. 2007. Espécies da fauna ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo. (M. Passamani e S.L. Mendes, orgs.). Instituto de Pesquisas da Mata Atlântica, Vitória, ES. 140 pp.
- Izecksohn, E., e S.P. de Carvalho-e-Silva. 2001. Anfíbios do município do Rio de Janeiro. Editora UFRJ. 148 pp.

- Leite, F.S.F., F.A. Juncá, e P.C. Eterovick. 2008. Status do conhecimento, endemismo e conservação de anfíbios anuros da Cadeia do Espinhaço, Brasil. *Megadiversidade* 4:158–176.
- Maxson, L.R., e W.R. Heyer. 1982. Leptodactylid frogs and the Brazilian shield: an old and continuing adaptive relationship. *Biotropica* 14:10–15.
- Miranda-Ribeiro, A. 1923. Os hylodideos do Museu Paulista. *Rev. do Mus. Paul.* 825–846.
- Muralidhar, P., F.P. De Sá, C.F.B. Haddad, e K.R. Zamudio. 2014. Kin-bias, breeding site selection and female fitness in a cannibalistic Neotropical frog. *Mol. Ecol.* 23:453–463.
- Myers, N., R.A. Mittermeier, C.G. Mittermeier, G.A.B. Fonseca, e J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853–858.
- Ribeiro, M.C., J.P. Metzger, A.C. Martensen, F.J. Ponzoni, e M.M. Hirota. 2009. The Brazilian Atlantic forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biol. Conserv.* 142:1141–1153. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>
- Rio Grande do Sul, A.L. 2014. Espécies da fauna silvestre ameaçadas de extinção no estado do Rio Grande do Sul. DOE número 173, de 09 de setembro de 2014, Brasil.
- Sabbag, A.F., M.L. Lyra, K.R. Zamudio, C.F.B. Haddad, R.N. Feio, F.S.F. Leite, J.L. Gasparini, e C.A. Brasileiro. 2018. Molecular phylogeny of Neotropical rock frogs reveals a long history of vicariant diversification in the Atlantic forest. *Mol. Phylogenet. Evol.* 122:142–156.
- Sazima, I. 1971. The occurrence of marine invertebrates in the stomach contents of the frog *Thoropa miliaris*. *Cienc. Cult.* 23:647–648.
- Silveira, F.A.O., D. Negreiros, N.P.U. Barbosa, ... H. Lambers. 2016. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant Soil* 403:129–152.
- Siqueira, C.C., M. Van Sluys, C. V. Ariani, e C.F.D. Rocha. 2006. Feeding ecology of *Thoropa miliaris* (Anura, Cycloramphidae) in four areas of Atlantic rain forest, Southeastern Brazil. *J. Herpetol.* 40:520–525.
- Spix, J.B. v. 1824. *Animalia nova sive Species novae Testudinum et Ranarum quas in itinere per Brasiliam annis MDCCCXII-MDCCCXX jussu et auspiciis Maximiliani Josephi I. Bavariae Regis.* F. S. Hübschmann, München.
- Wandolleck, B. 1907. Einige Neue und Weniger Bekannte Batrachier von Brasilien. *Abhandlungen und Berichte des Zool. und Anthropol. Museums zu Dresden* 1–15.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

### *Limites entre espécies*

Nosso estudo mostrou que dentro do complexo de *Thoropa miliaris* + *T. taophora* existe possivelmente o que é chamado de “diversidade críptica”, que muitos autores já encontraram para outras espécies de anfíbios anuros (Angulo e Icochea 2010; Jungfer et al. 2013; Gehara et al. 2017; Castroviejo-Fisher et al. 2017; Carvalho et al. 2019). A diversidade de espécies do complexo *T. miliaris* + *T. taophora* parece ser críptica porque as unidades evolutivamente significativas que encontramos (mil-1, mil-2, mil-3, mil-4, mil-5 e *T. taophora*) podem ser espécies distintas, mas não possuem diferenças morfológicas externas em adultos ou larvas que possibilitem diferenciá-las.

Uma característica comumente usada para diagnosticar espécies morfológicamente crípticas de anfíbios anuros é o canto de anúncio (Angulo e Reichle 2008; Carvalho et al. 2019). É possível que as espécies desse complexo de *Thoropa miliaris* + *T. taophora* se diferenciem em nível acústico. O Dr. Thiago Carvalho (UNESP, Rio Claro, SP) analisou preliminarmente quatro gravações de cantos de anúncio de indivíduos de *Thoropa miliaris*: três deles coletados em um mesmo afloramento rochoso em Santa Teresa, ES (AAG-UFU 6166, 6167 e 6168) e um deles gravado em Juiz de Fora, MG (sem exemplar coletado). Dos três indivíduos de Santa Teresa, dois deles pertencem à linhagem mil-1. O outro pertence à linhagem mil-2. O indivíduo de Juiz de Fora (MG) não foi coletado. Os três indivíduos de Santa Teresa possuem papilas completas (na articulação metacarpal-falangeal, no tubérculo metacarpal interno, nos dedos II, III e IV) e são bastante semelhantes morfológicamente, embora possuam tamanhos diferentes. Segundo o pesquisador, o canto do indivíduo de Juiz de Fora (MG) assemelha-se ao canto de *T. miliaris* gravado no Rio de Janeiro (RJ) e recentemente descrito por Nunes-de-Almeida et al. (2016a) (T. Carvalho, comunicação pessoal). Os outros três cantos de Santa Teresa (ES), embora sejam de linhagens diferentes, aparentemente são muito semelhantes (T. Carvalho, comunicação pessoal). É possível que existam diferenças em aspectos do canto não vistos em análises informais e preliminares que sejam passíveis de serem usadas como diagnoses para as linhagens. Porém, se as semelhanças nos cantos forem confirmadas, essas observações nos trarão a hipótese de que as linhagens de *T. miliaris* se reconhecem ou se isolam reprodutivamente de alguma outra maneira ainda desconhecida.

Por outro lado, populações de *T. megatympanum* e *T. saxatilis* ainda não analisadas ao nível molecular de estrutura genética (como fizemos no primeiro capítulo para *T. miliaris* e *T.*

*taophora*) possuem alguma variação morfológica no que diz respeito às larvas (na expansão dérmica posterolateral e no tubo cloacal). Da mesma forma, parece possível diferenciar as espécies *T. megatympnum*, *T. saxatilis*, *T. petropolitana* e *T. lutzi* do complexo *T. miliaris* + *T. taophora* utilizando uma combinação de características morfológicas. É possível ainda incluir características osteológicas e miológicas do gênero nas análises. É possível, por exemplo, que existam características osteológicas ou miológicas que diferenciem o grupo petropolitana e o grupo miliaris. Mas imaginamos que dentro do grupo miliaris é pouco provável que existam diferenças em morfologia interna. As características morfológicas externas das espécies e linhagens de *Thoropa* mostraram-se bastante conservadas, o que faz sentido pelo ambiente de vida e desenvolvimento delas ser tão parecido. Possivelmente as pressões seletivas atuantes no gênero estejam forçando a manutenção de características adaptadas às rochas úmidas.

De qualquer maneira, com os dados desse estudo pretendemos rever as diagnoses morfológicas das espécies de *Thoropa* para incluir uma combinação de características que sejam úteis para diferenciar as espécies e linhagens. Junto disso pretendemos fazer uma revisão taxonômica do gênero, e investigar as relações filogenéticas entre as espécies de *Thoropa*, especialmente no que diz respeito ao grupo petropolitana que foi pouco investigado no estudo anterior com filogenia do grupo (Sabbag et al. 2018).

#### *Biogeografia e conservação*

Das seis espécies do gênero, três estão em alguma categoria de ameaça, sendo que duas delas (do grupo petropolitana) já são consideradas como desaparecidas pelo menos nas suas localidades tipo. As razões para declínios de anfíbios anuros são muitas (Stuart et al. 2004), mas cada caso pode diferir em razão das particularidades de cada grupo de anuros. Uma característica reprodutiva do grupo petropolitana nos faz pensar se esses animais não são pouco resistentes à ação antrópica e à diminuição do habitat. Essa característica é a quantidade de ovos por desova, que em *T. petropolitana* foi relatada como 16 ovos em uma desova analisada (Heyer e Crombie 1979) e em *T. miliaris* e *T. taophora* foram relatados entre 140 e 1746 ovos, em 57 desovas analisadas (Giaretta e Facure 2004; Consolmagno et al. 2016). Caso essa quantidade diminuta de ovos encontrada por Heyer e Crombie (1979) para *T. petropolitana* seja um padrão para o grupo petropolitana, esses animais possivelmente têm menor sucesso reprodutivo quando comparados ao grupo miliaris.

As espécies do gênero *Thoropa* possuem diversas adaptações comportamentais e morfológicas aos ambientes em que vivem. Embora a característica geral do ambiente seja a

mesma para todas as espécies (rochas com filmes fluidos de água), existem algumas variações nesses ambientes em características como intensidade do fluxo de água, características climáticas, altitude e incidência solar. Pode ser que algumas dessas características ambientais estejam determinando o atual padrão de distribuição das espécies.

Em qualquer mapa de distribuição das espécies é possível notar que elas ocupam locais com alguma associação a montanhas e morros (Feio et al. 2006; Fitzpatrick et al. 2009; Sabbag et al. 2018). Mas não necessariamente estão sempre em altas altitudes, já que *T. miliaris* e *T. taophora* também vivem próximas ao nível do mar. Embora sejam animais de Mata Atlântica ou ecótonos (*campo rupestre*) as espécies não ocorrem em toda a extensão do domínio. Não são encontradas na Mata Atlântica da maioria dos estados do nordeste ao norte da Bahia, nem em fragmentos do bioma no Centro-Oeste. Também não são encontradas no estado do Paraná e em parte do estado de Santa Catarina, mesmo existindo nessas regiões a mesma Serra Geral onde ocorre *T. saxatilis*. Além disso, ainda que sejam espécies de um domínio primariamente florestado, esses animais preferem ambientes ensolarados (Giaretta e Facure 2004; Consolmagno et al. 2016), o que também combina com a distribuição de *T. megalympanum* em campo rupestre na Cadeia do Espinhaço.

Tanto *T. megalympanum* quanto *T. saxatilis* são encontradas com muita frequência associadas a riachos, rios de vazão baixa e cachoeiras, no geral todos permanentes. Por outro lado, muitos locais de ocorrência de *T. miliaris* e *T. taophora* não estão associados a um rio ou riacho. São fluxos por vezes muito finos de água, que se assemelham a nascentes de águas nas rochas. Essas rochas em que vivem as espécies do grupo são principalmente afloramentos rochosos ígneos, formados em basaltos, granitos e mármore (Feio 2002). No interior dessas rochas é comum existirem sistemas aquíferos, que no caso desse tipo de formação rochosa, eles são classificados como aquíferos fissurais (cristalinos) ou cársticos (Martins et al. 2006). Uma das características desses aquíferos é a capacidade de formar acúmulos de água dentro dos afloramentos, que podem encher e transbordar pelas fissuras quando chove, criando um fluxo fino e contínuo de água na superfície do afloramento (Martins et al. 2006; Cardoso et al. 2012). Essas águas podem secar após poucos dias sem chuvas (Giaretta e Facure 2004), provavelmente estimulando nesses animais o surgimento de adaptações típicas dos ambientes temporários, como desenvolvimento embrionário e larval acelerado, altas taxas de migração e resistência a ambientes mais secos. Portanto, imaginamos que a distribuição de *Thoropa* dependa de um somatório de fatores como pluviosidade, temperatura, distribuição de rochas e seus sistemas aquíferos associados. Com nossos dados pretendemos fazer estudos de nichos ecológicos para investigar melhor essas correlações entre as distribuições geográficas e os ambientes. A partir

de modelagem de nicho ecológico e das nossas sequências genéticas, pretendemos também inferir possíveis processos evolutivos que tenham feito parte da história do gênero, através de estudos filogeográficos e de demografia histórica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angulo, A., e J. Icochea. 2010. Cryptic species complexes, widespread species and conservation: lessons from Amazonian frogs of the *Leptodactylus marmoratus* group (Anura: Leptodactylidae). *Syst. Biodivers.* 8:357–370.
- Angulo, A., e S. Reichle. 2008. Acoustic signals, species diagnosis, and species concepts: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. *Zool. J. Linn. Soc.* 152:59–77.
- Barth, R. 1956. Observações anatômicas sôbre a larva de *Thoropa miliaris* (Amphibia, Leptodactylidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 54:489–497.
- Cardoso, F.B.F., L. Almeida, M.V.C. Gonçalves, F.R. Oliveira, F.S.N. Nascimento, A.N.P. Ferreira, e M.T.P. Gaspar. 2012. Mapa das áreas aflorantes dos aquíferos e sistemas aquíferos do Brasil. P. 1–6 in XVII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas e XVIII Encontro Nacional de Perfuradores de Poços.
- Carvalho, T.R. de, C.S. Cassini, P.P.G. Taucce, e C.F.B. Haddad. 2019. A new, morphologically cryptic species of *Adenomera* closely related to *Adenomera araucaria* from the Atlantic Forest of Southern Brazil (Anura, Leptodactylidae). *J. Herpetol.* 53:131.
- Castroviejo-Fisher, S., J. Köhler, I. De La Riva, e J.M. Padial. 2017. A new morphologically cryptic species of *Phyllomedusa* (Anura: Phyllomedusidae) from Amazonian forests of northern Peru revealed by DNA sequences. *Zootaxa* 4269:245–264.
- Consolmagno, R.C., G.S. Requena, G. Machado, e C.A. Brasileiro. 2016. Costs and benefits of temporary egg desertion in a rocky shore frog with male-only care. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 70:785–795.
- Dias, P.H. dos S. 2018. Evolution of larval characters in Dendrobatoidea Cope, 1865 (Amphibia; Anura; Dendrobatidae and Aromobatidae). Universidade de São Paulo. 342 pp.
- Feio, R.N. 2002. Revisão taxonômica do gênero *Thoropa* Cope, 1865 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 217 pp.
- Feio, R.N., M.F. Napoli, e U. Caramaschi. 2006. Considerações taxonômicas sobre *Thoropa*

- miliaris* (Spix, 1824), com revalidação e redescrição de *Thoropa taophora* (Miranda-Ribeiro, 1923) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Arq. do Mus. Nac. 64:41–60.
- Fitzpatrick, S.W., C.A. Brasileiro, C.F.B. Haddad, e K.R. Zamudio. 2009. Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. Mol. Ecol. 18:2877–2896.
- Gehara, M., A. Barth, E.F. de Oliveira, M.A. Costa, C.F.B. Haddad, e M. Vences. 2017. Model-based analyses reveal insular population diversification and cryptic frog species in the *Ischnocnema parva* complex in the Atlantic forest of Brazil. Mol. Phylogenet. Evol. 112:68–78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.04.007>
- Giaretta, A.A., e K.G. Facure. 2004. Reproductive ecology and behavior of *Thoropa miliaris* (Spix, 1824) (Anura, Leptodactylidae, Telmatobiinae). Biota Neotrop. 4:1–10.
- Heyer, W.R., e R.I. Crombie. 1979. Natural history notes on *Craspedoglossa stejnegeri* and *Thoropa petropolitana* (Amphibia: Salientia, Leptodactylidae). J. Washingt. Acad. Sci. 69:17–20.
- Jungfer, K.H., J. Faivovich, J.M. Padial, ... C. F. B. Haddad. 2013. Systematics of spiny-backed treefrogs (Hylidae: *Osteocephalus*): an Amazonian puzzle. Zool. Scr. 42:351–380. DOI: <https://doi.org/10.1111/zsc.12015>
- Martins, A.M., E. Capucci, L.C. Caetano, G. Cardoso, A.B.C. Barreto, A.L.M. Monsorens, A.S. Leal, e P. Vianna. 2006. Hidrogeologia do estado do Rio de Janeiro - síntese do estágio atual do conhecimento. P. 1–17 in XIV Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas.
- Nunes-de-Almeida, C.H.L., C.L. Assis, R.N. Feio, e L.F. Toledo. 2016. Redescription of the advertisement call of five species of *Thoropa* (Anura, Cycloramphidae), including recordings of rare and endangered species. PLoS One 11:1–12.
- Sabbag, A.F., M.L. Lyra, K.R. Zamudio, C.F.B. Haddad, R.N. Feio, F.S.F. Leite, J.L. Gasparini, e C.A. Brasileiro. 2018. Molecular phylogeny of Neotropical rock frogs reveals a long history of vicariant diversification in the Atlantic forest. Mol. Phylogenet. Evol. 122:142–156.
- Stuart, S.N., J.S. Chanson, N.A. Cox, B.E. Young, A.S.L. Rodrigues, D.L. Fischman, e R.W. Waller. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. Science (80-. ). 306:1783–1786.
- Wassersug, R.J., e W.R. Heyer. 1983. Morphological correlates of subaerial existence in leptodactylid tadpoles associated with flowing water. Can. J. Zool. 61:761–769.