

ANEXO I

CONDROCRÂNIO E DESENVOLVIMENTO OSTEOLÓGICO LARVAL EM *HYLODES NASUS* (LICHTENSTEIN, 1823) DO PARQUE NACIONAL DA TIJUCA, RJ (AMPHIBIA, ANURA, HYLODIDAE)

Márcio Turco Teixeira ¹; Ana Maria Paulino Telles de Carvalho e Silva (orientador)¹

1 - Laboratório de Biossistemática de Anfíbios - LABAN/UNIRIO; Departamento de Zoologia; Instituto de Biociências; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

RESUMO:

O presente trabalho tem o objetivo de verificar a presença de um processo de ossificação condrocranial precoce nos girinos de *Hylodes nasus* (Lichtenstein, 1823); bem como de descrever o condrocânio e aspectos ontogenéticos dessa espécie. A metodologia adotada para tal consistiu na diafanização dos girinos para visualização do esqueleto, possibilitando a produção de imagens para descrição e análises morfométricas. Os resultados obtidos confirmam a presença de estruturas ossificadas nos estágios larvais iniciais e fornecem dados relevantes sobre o desenvolvimento da espécie estudada.

Palavras-chave: Hylodidae; osteologia; Mata Atlântica; larvas

INTRODUÇÃO:

Na família Hylodidae, 25 espécies têm sua osteologia larval descrita (Nogueira-Costa, 2014; Silva-Soares et al., 2015; Nogueira-Costa et al., 2019) e somente 3 espécies incluem indivíduos em estágios iniciais nessas descrições (Bilate et al., 2012; Nogueira-Costa & Wachlevski, 2015; Silva-Soares et al., 2015; Oliveira, 2020). Dessas, apenas *Megaelosia goeldii* (Baumann, 1912) conta com observações e análises relativas a seu desenvolvimento osteológico (Oliveira, 2020), a qual apresenta um clímax de crescimento e um início precoce da calcificação ainda no estágio 25, apresentando correlação com um clímax de crescimento externo observado para essa espécie (Neves-da-Silva et al., 2018). O mesmo clímax de crescimento externo em estágios iniciais ocorre (Costa, 2021) em *Hylodes nasus* (Lichtenstein, 1823), para a qual não há trabalhos sobre seu desenvolvimento osteológico.

OBJETIVOS:

- 1- Descrever o esqueleto do estágio inicial do girino de *H. nasus*, estágio 25, observando a ossificação ou não-ossificação de estruturas condrocraniais.
- 2- Analisar mudanças na forma do condrocânio ao longo de diferentes estágios de desenvolvimento do girino de *H. nasus*.
- 3- Registrar a sequência de formação e calcificação dos elementos ósseos durante o desenvolvimento do girino de *H. nasus*.

METODOLOGIA:

O estudo foi realizado utilizando indivíduos (n=16) da Coleção de Anfíbios da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), depositada no Laboratório de Biossistemática de Anfíbios (LABAN) da UNIRIO. Os girinos foram originalmente coletados no Parque Nacional da Tijuca (Rio de Janeiro, RJ) com auxílio de puçás, peneiras e armadilha tipo covô.

A técnica de diafanização adotada para visualização do esqueleto foi adaptada a partir do processo utilizado por Oliveira (2020) com base em Taylor & Van Dyke (1985).

As imagens utilizadas foram produzidas com câmera digital acoplada a microscópio estereoscópico e passaram por tratamento no programa de edição GIMP.

Para as análises morfométricas, as imagens foram compiladas num único arquivo com o programa tpsUtil v. 1.83. A aquisição das *landmarks* foi realizada com o tpsDig2 v.2.32 com base em trabalhos anteriores que aplicaram o método da morfometria geométrica a girinos (Larson, 2002; Vera-Candioti et al., 2007; Garriga & Llorente, 2011; Yildirim, 2019), e o deslocamento das mesmas foi analisado com o programa MorphoJ v. 1.07a.

RESULTADOS:

A descrição osteológica da larva no estágio 25B revela uma morfologia típica dos membros de Hylodidae. Existe um processo precoce de calcificação na base do crânio, no paraesfenoide e na região frontoparietal (Figura 1).

Nas análises morfométricas, a ANOVA de Procrustes demonstra que o girino de *Hylodes nasus* passa por alterações significativas na forma de seu condrocrânio ($F = 2,03$; $P < 0,05$) ao longo de seu desenvolvimento, que de acordo com a PCA ocorrem principalmente entre os estágios 25A e 25B, e posteriormente a partir do estágio 39 com a transição para o ambiente terrestre.

A ossificação do crânio ocorre de forma gradual a partir do primeiro estágio, e o fusionamento das estruturas calcificadas se inicia pela parte posterior do crânio (a partir do estágio 39) progredindo em direção à parte anterior.

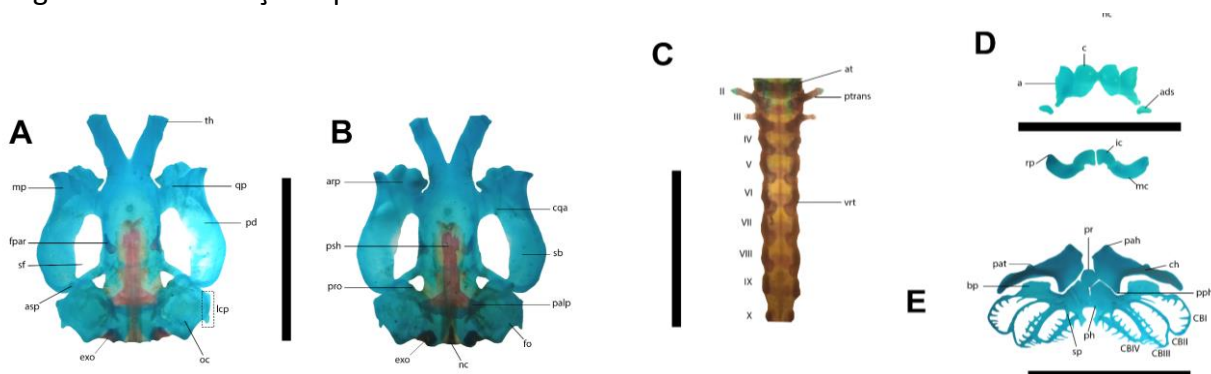


Figura 1. Esqueleto do girino de *Hylodes nasus*, estágio 25B (n=3) (A) Vista dorsal do condrocrânio, UNIRIO 2436(1). (B) Vista ventral do condrocrânio, UNIRIO 2436(1). (C) Esqueleto axial, UNIRIO 2436(2). (D) Vista dorsal das cartilagens supra e infraostrais, UNIRIO 2436(2). (E) Vista ventral do esqueleto hipobranquial. Abreviações: a, suprarostrais ala; ads, cartilagem adrostral; arp, processo articular; asp, processo ascendente; at, atlas; bp, processo branquial; c, suprarostrais corpus; CB (I, II, III, IV), ceratobranquial; ch, ceratohyal; cqa, comissura quadratocranial; exo, exoccipital; fo, fenestra ovalis; fpar, osso frontoparietal; ic, cartilagem infraostral; lcp, crista parótica larval; mc, cartilagem de Meckel; mp, processo muscular; nc, canal da notocorda; oc, capsula ótica; pah, processo anterior hyalis; palp, processo alar pala; pat, processo anterolateralis hyalis; pd, palatoquadrado; ph, placa hipobranquial; pph, processo posterior hyalis; pr, basibrânquia; pro, proótico; psh, paraesfenoide; ptrans, processo transversal; qp, região quadrato-etmoidal; rp, processo retroarticular; sb, barra subocular; sf, fenestra subocular; sp, espícula; th, cornua trabeculae; vrt, vertebras. Escala = 5 mm

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos indicam um desenvolvimento larval similar àquele observado (Oliveira, 2020) para *Megaelosia goeldii*, tanto pelas grandes mudanças no formato condrocranial durante o primeiro estágio quanto pela ossificação que se inicia nesse momento. Esses dados reforçam a proximidade entre os dois gêneros e podem indicar uma possível sinapomorfia para a família. A análise do desenvolvimento de mais espécies de Hylodidae pode ajudar a compôr uma base de conhecimento útil para futuras revisões sistemáticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- NOGUEIRA-COSTA, P. 2014. Os girinos da família Hylodidae (Amphibia: Anura): morfologia externa, miologia e osteologia. Tese de Doutorado. Museu Nacional, UFRJ.
- SILVA-SOARES, T; NOGUEIRA-COSTA, P; BORGES JÚNIOR, VNT; WEBER, LN; ROCHA, CFD. (2015) The Larva of *Crossodactylus aeneus* Müller, 1924: Morphology and Ecological Aspects. *Herpetologica*. 71. 46-57.
- NOGUEIRA-COSTA, P.; WEBER, L. N.; WOGEL, H.; SALLES, R. O. L.; BILATE, M. 2019. A Description of the Tadpoles of *Hylodes pipilans* Canedo and Pombal, 2007: An Endemic Species of the Atlantic Forest of Brazil. *Herpetological Conservation and Biology* 14(2):370–379.
- BILATE, M; COSTA, P; WEBER, L. (2012) The tadpole of the hylodid frog *Hylodes ornatus* (Bokermann, 1967), including chondrocranium description, and advertisement call. *Zootaxa*. 60-66.
- NOGUEIRA-COSTA, P.; WACHLEVSKI, M. 2015. The tadpole of *Hylodes meridionalis* (Mertens, 1927), a lotic stream anura from the Atlantic Rainforest of Brazil. *Zootaxa* 4032(2): 199-202.
- SILVA-SOARES, T; NOGUEIRA-COSTA, P; BORGES JÚNIOR, VNT; WEBER, LN; ROCHA, CFD. (2015) The Larva of *Crossodactylus aeneus* Müller, 1924: Morphology and Ecological Aspects. *Herpetologica*. 71. 46-57.
- OLIVEIRA, L. Q. 2020. Caracterização do Condrocânio e desenvolvimento osteológico dos girinos de *Megaelosia goeldii* (Baumann, 1912). Monografia de Bacharelado. Ciências Biológicas. UNIRIO.
- NEVES-DA-SILVA, D.; DA ROSA, F. C. B & CARVALHO E SILVA, A. M. P. T. 2018. Ontogeny and behavioural aspects of the tadpoles of *Megaelosia goeldii* (Baumann, 1912) (Amphibia, Anura, Hylodidae). *Herpetology Notes*, 11, 629-639.
- COSTA, A. B. F. 2021. Aspectos ontogenéticos de *Hylodes nasus* (Lichtenstein, 1823) (Amphibia, Anura, Hylodidae) do Parque Nacional da Tijuca, RJ. Monografia de Bacharelado. Ciências Biológicas. UNIRIO.
- GOSNER, K.L. 1960. A Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. *Herpetologica*, 16, 183-190.
- TAYLOR, W. R; VAN DYKE, George C. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybiurn*, v. 9, p. 107-119, 1985.