

Cariótipos de oito espécies de anfíbios das subfamílias Hyalinae e Phyllomedusinae (Anura, Hylidae) do Espírito Santo, Brasil

Rosana R. A. Nunes¹ & Valéria Fagundes^{1*}

RESUMO: Apresentamos o cariótipo de oito espécies de anfíbios de duas subfamílias de Hylidae: Phyllomedusinae e Hyalinae. Seis espécies da subfamília Hyalinae (*Aparasphenodon brunoi*, *Itapotihyla langsdorffii*, *Hypsiboas polytaenius*, *Scinax alter*, *Scinax* sp. e *Scinax argyreornatus*) apresentaram cariótipos com $2n=24$ e $NF=48$, com grandes similaridades na sua estrutura cariotípica. Por outro lado, as espécies de Phyllomedusinae apresentaram cariótipos bastante distintos, com evidências da presença de cromossomos sexuais: *Phasmahyla exilis* ($2n=26$ e $NF=52$) e *Phyllomedusa rohdei* ($2n=40$ e $NF=80$). Os cariótipos de *S. argyreornatus*, *S. alter* e *P. exilis* são descritos pela primeira vez na literatura. O cariótipo de *Phyllomedusa rohdei* é uma nova forma observada na subfamília Phyllomedusinae.

Palavras-chave: anfíbios, cromossomos sexuais, Hylidae, Hyalinae, Phyllomedusinae.

ABSTRACT: Karyotypes of amphibians of the subfamilies Hyalinae and Phyllomedusinae (Anura, Hylidae) from Espírito Santo, Brazil.

We present the karyotype of eight species of amphibians of two subfamilies of Hylidae: Phyllomedusinae and Hyalinae. Six species in the subfamily Hyalinae (*Aparasphenodon brunoi*, *Itapotihyla langsdorffii*, *Hypsiboas polytaenius*, *Scinax alter*, *Scinax* sp., and *Scinax argyreornatus*) had $2n=24$ and $FN=48$, with extensive karyotypic similarities. Species of Phyllomedusinae, on the other hand, had strikingly distinct karyotypes, and evidence of sex chromosomes: *Phasmahyla exilis* ($2n=26$ and $FN=52$) and *Phyllomedusa rohdei* ($2n=40$ and $FN=80$). The karyotypes of *S. alter*, *S. argyreornatus*, and *P. exilis* are described for the first time. The karyotype of *P. rohdei* is a new form in the subfamily Phyllomedusinae.

Key words: amphibians, sex chromosomes, Hylidae, Hyalinae, Phyllomedusinae.

¹ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, 29043-900, Vitória, ES, Brasil.

* Correspondente: vfagunde@npd.ufes.br

Recebido: 1 out 2007. Aceito: 16 mai 2008.

Introdução

A ordem Anura possui 5453 espécies (Frost, 2007). A família Hylidae é composta por três subfamílias: Phyllomedusinae, Pelodyadinae e Hylinae, sendo a última a maior das três, com 37 gêneros e 606 espécies, divididas em quatro tribos: Cophomantini, Lophiohylini, Hylini e Dendropsophini (Faivovich *et al.*, 2005; Frost, 2007). Phyllomedusinae contém somente sete gêneros (*Agalychnis*, *Cruziohyla*, *Hylomantis*, *Pachymedusa*, *Phasmahyla*, *Phrynomedusa* e *Phyllomedusa*) e 57 espécies, sendo que existem 31 espécies no gênero *Phyllomedusa* (Frost, 2007).

A maior parte dos estudos citogenéticos em anfíbios refere-se à ordem Anura, totalizando 830 espécies com cariótipos descritos (15% das espécies), segundo as duas grandes últimas revisões do grupo realizadas por King *et al.* (1990) e Kuramoto (1990). Desde 1990, muitas espécies tiveram seus cariótipos descritos e estudados, mas existe ainda uma grande parcela de anfíbios que não possuem seus cariótipos descritos, sendo poucos os dados sobre bandamento dos cromossomos. Estudos de citogenética de anfíbios do Espírito Santo também são raros na literatura.

No presente estudo, foram analisados exemplares de seis espécies da subfamília Hylinae e de duas espécies da subfamília Phyllomedusinae, provenientes do Espírito Santo.

Métodos

Foram analisados 21 exemplares de seis localidades do Espírito Santo, que estão depositados no Museu de Biologia Prof. Mello Leitão, Santa Teresa, Espírito Santo (Tabela 1). Para a preparação citogenética, os animais foram tratados com solução de colchicina 0,1% na proporção de 1 ml/100 g de peso corpóreo por um período de 4 a 6 horas antes de serem processados. Após a morte dos animais, os cromossomos mitóticos foram obtidos de células do epitélio intestinal, através da técnica de esmagamento (Bogart, 1973a). Segundo esse protocolo, a metade inicial do intestino delgado é retirada, cortada ao meio em sua extensão e mantida por 30 minutos em água destilada gelada. Em seguida, o intestino é fixado em solução de metanol: ácido acético 3:1 (fixador de Carnoy) e mantida a 4°C até proceder ao esmagamento. Posteriormente, fragmentos dos intestinos são raspados em lâmina histológica com 2–3 gotas de solução de fixador de Carnoy e esmagados entre lâmina e lamínula. Em seguida, as lâminas são mergulhadas em nitrogênio líquido por um minuto e a lamínula é retirada

com o auxílio de um estilete. Após a retirada da lamínula, a lâmina é mergulhada em álcool absoluto e seca ao ar.

As lâminas foram mantidas a -20°C até a coloração. Para coloração comum, as lâminas foram hidrolisadas em HCl 1 N a 60°C por 10 minutos e imersas em (ou gotejadas com) solução de Giemsa 3% por 10 minutos. Para coloração das regiões organizadoras de nucléolos pela prata (Ag-RONs) seguiu-se Howell & Black (1980). Pelo menos 20 metáfases foram analisadas e os cromossomos contados para determinação do número diplóide ($2n$) e do número de braços autossômicos (NF). As melhores metáfases foram fotografadas e os cromossomos montados em ordem decrescente de tamanho. Foram considerados cromossomos sexuais os pares que se mostraram heteromórficos em machos. Não foram analisados exemplares fêmeas na amostra.

Resultados

As seis espécies da subfamília Hyliinae (*Aparasphenodon brunoi*, *Itapotihyla langsdorffii*, *Hypsiboas polytaenius*, *Scinax* sp., *S. alter* e *S. argyreornatus*) apresentaram $2n=24$ e $\text{NF}=48$ (Figuras 1 e 2). Embora muito semelhantes, os cariótipos mostraram pequenas diferenças quanto à morfologia de alguns pares cromossômicos, enquanto outros pares nunca variaram na sua forma nas diferentes espécies. Os pares 9, 10 e 11 são metacêntricos; os pares 2, 3, 4, 5 e 7 são submetacêntricos e o par 6 é subtlocêntrico em todos os cariótipos. Por outro lado, os pares 1, 8 e 12 variaram entre metacêntricos e submetacêntricos (Tabela 2). Não houve evidência de cromossomos sexuais em nenhum dos exemplares dessa subfamília. *Itapotihyla langsdorffii* apresentou uma marcação de Ag-RON na posição intersticial do braço longo do par 12 (Figura 1b).

As duas espécies da subfamília Phyllomedusinae apresentaram números diplóides distintos. *Phasmahyla exilis* apresentou $2n=26$ e $\text{NF}=52$ e *Phyllomedusa rohdei* apresentou $2n=40$ e $\text{NF}=80$ (Figura 3), sendo que o cariótipo de *P. exilis* é inédito na literatura.

Phasmahyla exilis apresenta os pares 1, 4, 8, 11 e 12 metacêntricos; os pares 2, 3, 6 e 10 submetacêntricos e os pares 5, 7 e 9 subtlocêntricos. Observou-se um par heteromórfico nos três exemplares machos analisados, formado por um cromossomo submetacêntrico médio e um submetacêntrico pequeno. Ambos os cromossomos mostraram-se diferenciados de qualquer outro cromossomo do complemento, tendo sido interpretados como cromossomos sexuais X e Y, respectivamente, do sistema XX:XY (Figura 3a).

Tabela 1. Táxons de anfíbios da família Hylidae analisados no presente estudo, incluindo localidade e número de tomo dos espécimes examinados. MBML = Museu de Biologia Prof. Mello Leitão, Santa Teresa, Espírito Santo.

Subfamília	Tribo	Espécie	Localidade	Número de tomo
Lophiohylini		<i>Aparasphenodon brunoi</i> Miranda Ribeiro, 1920	Parque Estadual Paulo César Vinha, Guarapari, ES	MBML 6307
		<i>Itapotihyla langsdorffii</i> (Duméril e Bibron, 1841)	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa, ES	MBML 6305, MBML 6306
Cophomantini		<i>Hypsiboas polytaenius</i> (Cope, 1970)	Parque Estadual da Pedra Azul, Domingos Martins, ES	MBML 6326, MBML 6310, MBML 6317, MBML 6321, MBML 6320, MBML 6318
			Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa, ES	MBML 6315, MBML 6312
Dendropsophini		<i>Scinax alter</i> (Lutz, 1973)	Parque Estadual Paulo César Vinha, Guarapari, ES	MBML 6340
			Lagoa da Samarco, Anchieta, ES	MBML 6323
Phyllomedusinae		<i>Scinax</i> sp.	Lagoa da Samarco, Anchieta, ES	MBML 6313, MBML 6314
		<i>Scinax argyreornatus</i> (Miranda Ribeiro, 1926)	Parque Estadual Paulo César Vinha, Guarapari, ES	MBML 6316, MBML 6322
Phyllomedusinae		<i>Phasmahyla exilis</i> (Cruz, 1980)	Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, ES	MBML 6327, MBML 6328, MBML 6329
		<i>Phyllomedusa rohdei</i> Mertens, 1926	Linhares, ES	MBML 6325

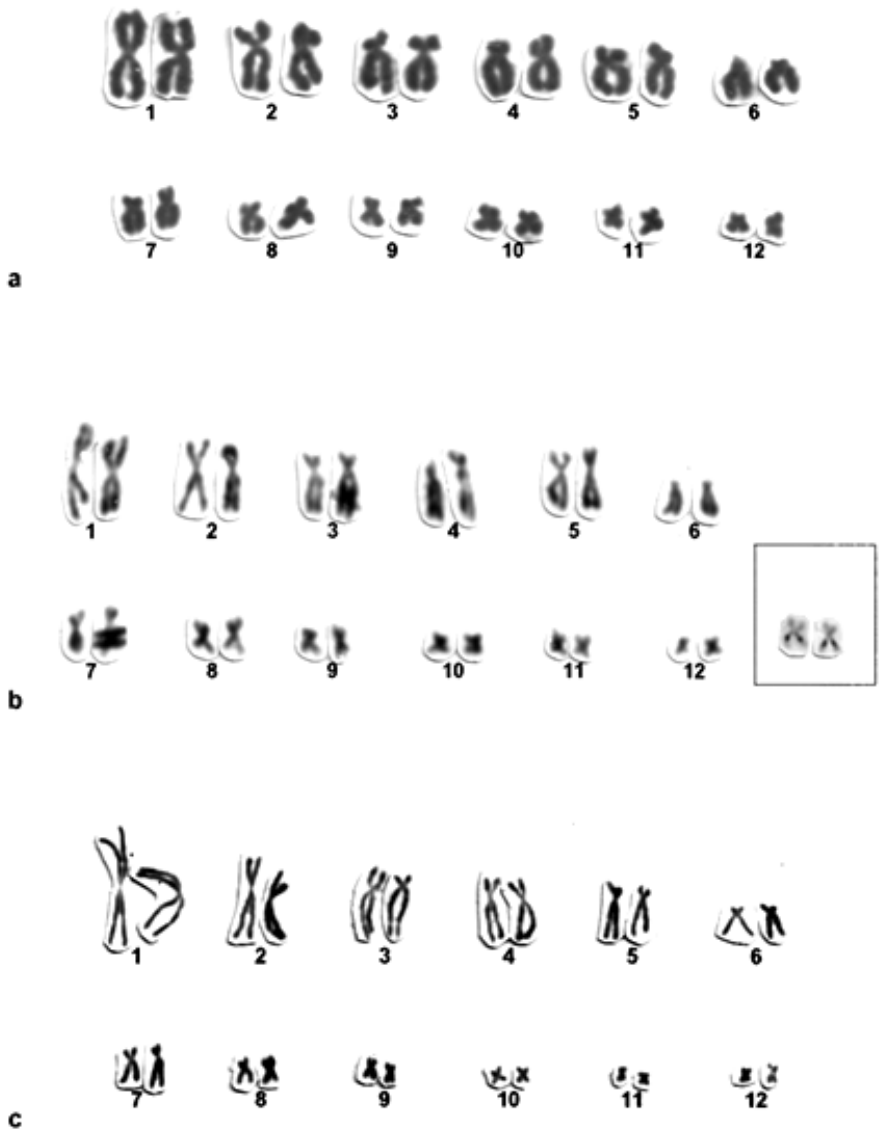


Figura 1. Cariótipos de hilídeos com $2n=24$, $NF=48$: **a)** *Aparasphenodon brunoi*; **b)** *Itapotihyla langsdorffii*—no quadrado observa-se a marcação de Ag-RON intersticial no braço longo do par 12; **c)** *Hysiboas polytaenius*.

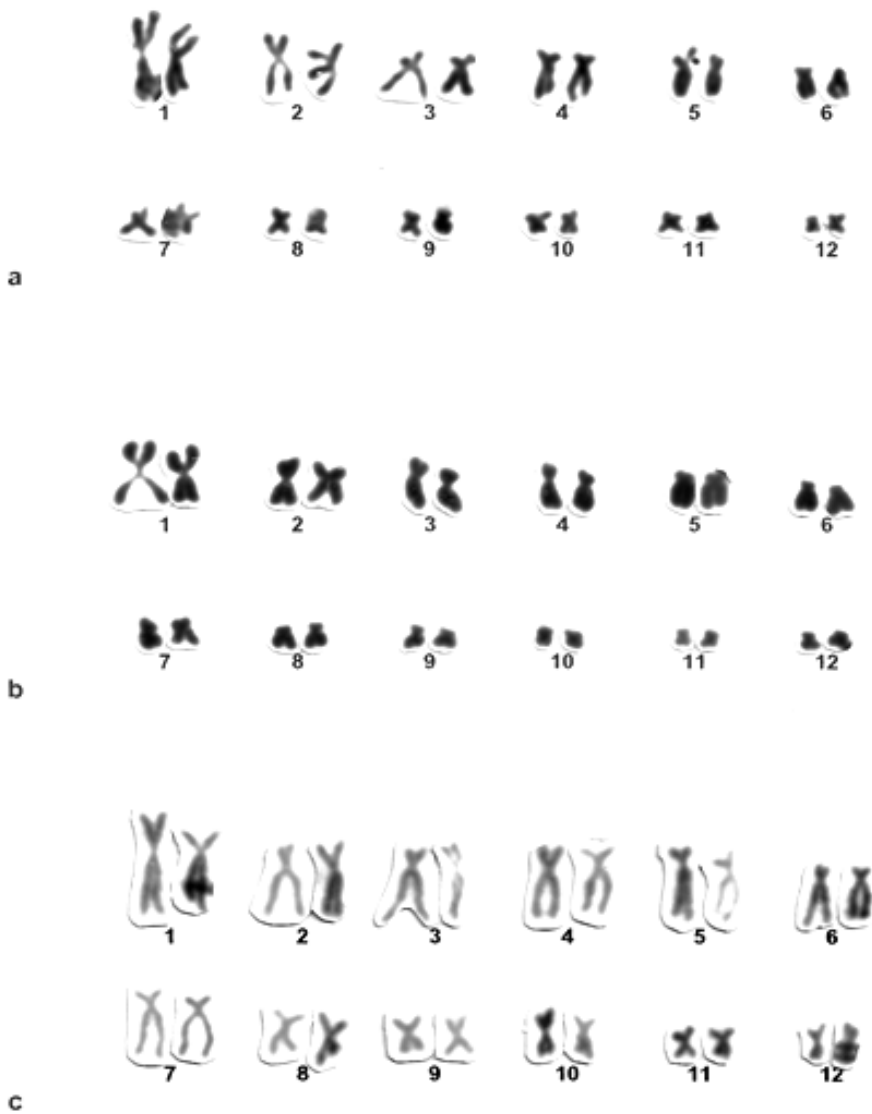


Figura 2. Cariótipos de hilídeos com $2n=24$, $NF=48$: **a)** *Scinax alter*; **b)** *Scinax* sp.; **c)** *Scinax argyreornatus*.

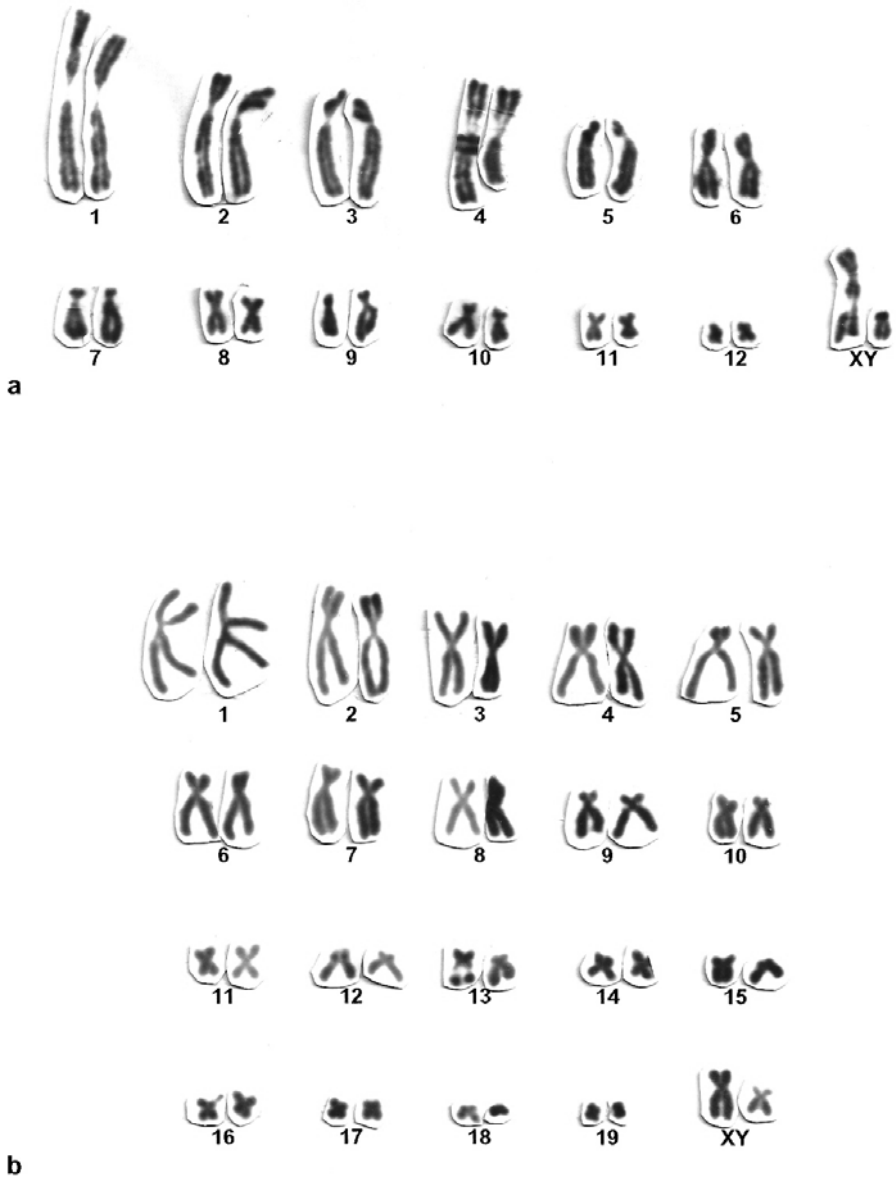


Figura 3. a) Cariótipo de *Phasmahyla exilis* com $2n=26$ e $NF=52$; **b)** Cariótipo de *Phyllomedusa rohdei* com $2n=40$ e $NF=80$. O par heteromórfico em machos é representado por XY (par sexual).

Tabela 2. Morfologia comparativa dos pares cromossômicos de seis espécies de Hyalinae ($2n=24$, $NF=48$). M=metacêntricos, SM=submetacêntricos, ST=subtelocêntricos.

Espécies	Pares cromossômicos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Aparasphenodon brunoi</i>	M	SM	SM	SM	SM	ST	SM	SM	M	M	M	SM
<i>Itapotihyla langsdorffii</i>	M	SM	SM	SM	SM	ST	SM	M	M	M	M	M
<i>Hypsiboas polytaenius</i>	M	SM	SM	SM	SM	ST	SM	M	M	M	M	M
<i>Scinax alter</i>	M	SM	SM	SM	SM	ST	SM	M	M	M	M	M
<i>Scinax</i> sp.	M	SM	SM	SM	SM	ST	SM	SM	M	M	M	SM
<i>Scinax argyreornatus</i>	SM	SM	SM	SM	SM	ST	SM	M	M	M	M	M

Phyllomedusa rohdei apresentou os pares 1, 3, 11, 14, 15, 16, 17 e 19 metacêntricos; os pares 2, 4, 6, 7, 8, 12, 13 e 18 submetacêntricos e os pares 5, 9 e 10 subtelocêntricos (Figura 3b). Observou-se um par heteromórfico nesse cariótipo, formado por um submetacêntrico médio e um subtelocêntrico pequeno, ambos interpretados como cromossomos sexuais do tipo X e Y, respectivamente, distintos dos autossomos.

Discussão

O presente estudo apresentou o cariótipo de oito espécies de hílídeos, sendo quatro descrições novas na literatura, com proposta de cromossomos sexuais em duas espécies. Pela primeira vez foram apresentados os cariótipos de representantes do Espírito Santo dessas espécies de hílídeos.

Os membros da subfamília Hyalinae apresentam o número diplóide $2n=24$ (Tabela 3) como uma das principais sinapomorfias, como já apontado por Duellman (2001). Observa-se, portanto, cariótipos muito parecidos, com morfologias muito semelhantes em gêneros distintos, como *Scinax*, *Hypsiboas*, *Itapotihyla* e *Aparasphenodon*. Quatro das seis espécies de Hyalinae analisadas já tiveram seus cariótipos previamente descritos a partir de espécimes de outras localidades: *Scinax* sp. (Bogart, 1973b), *I. langsdorffii* e *A. brunoi* (Foresti, 1972), *H. polytaenius* (Rabello, 1970) e os cariótipos registrados no presente estudo são semelhantes aos observados previamente. A presença da

Ag-RON intersticial no braço longo do par 12 de *I. langsdorffii* é concordante com dados descritos por Kasahara *et al.* (2003) para espécimes de Rio Claro e Ubatuba, no estado de São Paulo. As duas espécies restantes (*S. argyreornatus* e *S. alter*) têm seus cariótipos descritos pela primeira vez no presente estudo (Tabela 3).

Na subfamília Phyllomedusinae, o cariótipo de *Phasmahyla exilis* é descrito pela primeira vez na literatura, com $2n=26$ e $NF=52$. Esse gênero é formado por quatro espécies (*P. exilis*, *P. cochranae*, *P. guttata* e *P. jandaia*) que estão distribuídas no sudeste do Brasil, do leste de Minas Gerais e centro do Espírito Santo até o leste do Paraná (Caramaschi *et al.*, 2000; Cruz, 1990). A espécie *P. exilis* é endêmica do estado do Espírito Santo e é a única espécie de *Phasmahyla* com cariótipo descrito até o momento. Embora se trate de uma única descrição cariotípica no gênero, com somente três exemplares machos analisados, a presença de um par heteromórfico nos três exemplares sugere a ocorrência de cromossomos sexuais do tipo XX:XY, mesmo sem a observação do cariótipo de fêmeas. A variação de forma e tamanho dos cromossomos identificados como X (submetacêntrico médio) e Y (subtelocêntrico pequeno) é muito grande para ser explicada como um heteromorfismo de autossomos. No entanto, não descartamos a necessidade de utilização de bandamento C e comparação da estrutura cariotípica de fêmeas para confirmação dessa proposição dos cromossomos sexuais do tipo X e Y.

O gênero *Phyllomedusa* é formado atualmente por 31 espécies, com distribuição ampla, desde a Costa Rica, oeste da Colômbia, leste dos Andes, avançando para o sul da América do Sul, até o norte da Argentina (Frost, 2007). Das 31 espécies de *Phyllomedusa*, somente seis apresentam seus cariótipos conhecidos (Tabela 3). Nossos dados sobre um exemplar macho de *P. rohdei* proveniente de Linhares, no Espírito Santo apresentou $2n=40$ e $NF=80$. No entanto, exemplares de *P. rohdei* da mesma localidade descritos por Batistic (1989) apresentaram $2n=26$, $NF=52$. Essa diferença encontrada não se justifica por um polimorfismo cromossômico, uma vez que os cariótipos são bastante distintos entre si. O cariótipo com $2n=26$ é bastante freqüente em *Phyllomedusa*. Somente a espécie *P. tetraploidea* apresenta $2n=52$, uma forma poliplóide variante de $2n=26$ (Tabela 3). Beçak *et al.* (1970) relataram esse caso de tetraploidia, identificando essa forma tetraplóide como variante de *P. burmeisteri* com $4n=52$. Estudos complementares sugeriram que se tratava de uma espécie plena, com uma estrutura cariotípica resultante de eventos de poliploidia, gerando um cariótipo com $2n=52$ e chamaram esse táxon de *P. tetraploidea* (Pombal & Haddad, 1992). Mais tarde, Haddad *et al.* (1994) relataram

um caso de híbridos naturais entre *P. tetraploidea* ($2n=52$, $n=26$) e *P. distincta* ($2n=26$, $n=13$), coletados em uma área de simpatria (zona de hibridação) entre as formas parentais no estado de São Paulo, com $3n=39$. O exemplar de *P. rohdei* do Espírito Santo ($2n=40$) apresentou número diplóide próximo ao relatado para a forma híbrida entre *P. tetraploidea* e *P. distincta* ($3n=39$). Devido à proximidade do número diplóide $2n=40$ de *P. rohdei* e da forma híbrida com $2n=39$, verificamos a possibilidade de montagem do cariótipo com $2n=40$ em trios de cromossomos, mas esse arranjo mostrou-se pouco harmonioso, além da sobra de um cromossomo no complemento com $2n=40$, cuja origem não seria facilmente explicada. Além disso, não existe a possibilidade da forma com $2n=40$ do Espírito Santo referir-se a uma variante da forma híbrida com $2n=39$, uma vez que o Espírito Santo não é uma área de simpatria entre as formas parentais (*P. tetraploidea* e *P. distincta*), que somente ocorrem na região sul do Brasil, a partir de São Paulo. Coletas de novos exemplares no Espírito Santo serão importantes para um registro melhor caracterizado de *P. rohdei*.

Segundo Bogart (1973b), vários trabalhos sugerem que a família Hylidae teria surgido a partir de um estoque ancestral da família Leptodactylidae, cujo cariótipo predominante é $2n=26$. Esse autor propôs que o cariótipo $2n=26$ teria se diferenciado em duas linhagens ($2n=24$ e $2n=30$) independentemente dentro da família Hylidae. O cariótipo com $2n=24$ teria caracterizado a linhagem da subfamília Hylinae, através de mecanismos de fusão de cromossomos, enquanto a linhagem com $2n=30$ (atualmente característica do gênero *Dendropsophus*, vide Tabela 3 para maiores detalhes) teria surgido por um mecanismo de fissão cêntrica, originando cariótipos com cromossomos telocêntricos. Segundo essa interpretação de Bogart (1973b), o gênero *Phyllomedusa* ainda preservaria um cariótipo não especializado, parecido com Leptodactylidae com $2n=26$ e, portanto, poderiam ser representantes vivos dos hilídeos mais primitivos. A origem do cariótipo com $2n=40$ no gênero *Phyllomedusa* pode ser explicada através de mecanismos de novas fissões cromossômicas a partir do cariótipo ancestral com $2n=26$, seguidas de inversões pericêntricas. No entanto, apenas dados adicionais de bandamento cromossômico permitirão a interpretação dos cariótipos com maior detalhamento.

Finalmente, podemos observar que novos padrões citogenéticos tendem a emergir à medida que novos estudos envolvendo citogenética são realizados em hilídeos, principalmente envolvendo novas localidades, trazendo evidências para interpretações inéditas a respeito da evolução do grupo.

Tabela 3. Cariótipos de anfíbios hilídeos das subfamílias Hyliinae e Phyllomedusinae, incluindo número diplóide (2n) e número de braços autossômicos (NF).

Subfamília	Gênero	Espécie	2n	NF	Referências
Hyliinae	<i>Aparasphenodon</i>	<i>A. brunoi</i>	24	48	Foresti, 1972; presente estudo
	<i>Aplastodiscus</i>	<i>A. albofrenatus</i>	24/22	48/44	Bogart, 1973b
<i>A. albosignatus</i>		20/18	40/36	Bogart, 1973b	
	<i>Bokermannohyla</i>	<i>B. luctuosa</i>	24	48	Baldissera <i>et al.</i> , 1993
	<i>Charadrahyla</i>	<i>C. chaneque</i>	24	48	Duellman, 1970
	<i>Dendropsopus</i>	<i>D. rhodopeplus</i>	30	58	Bogart, 1973b
		<i>D. anceps</i>	30	58	Bogart, 1973b
		<i>D. wernerii</i>	30	56	Skuk & Langone, 1992
		<i>D. berthaltutzae</i>	30	54/52	Skuk & Langone, 1992
		<i>D. bipunctatus</i>	30	58	Bogart, 1973b
		<i>D. branneri</i>	30	54	Foresti, 1972
		<i>D. cruzi</i>	30	54	Gruber, 2002
		<i>D. decipiens</i>	30	56	Bogart, 1973b
		<i>D. ebraccatus</i>	30	58	Kaiser <i>et al.</i> , 1996
		<i>D. elegans</i>	30	52	Gruber, 2002
		<i>D. elianeae</i>	30	54	Gruber, 2002
		<i>D. rubicundulus</i>	30	58	Bogart, 1973b
		<i>D. labialis</i>	30	50	Bogart, 1973b
		<i>D. labialis</i>	30	50	Bogart, 1973b
		<i>D. leali</i>	30	60	Bogart, 1973b
		<i>D. leucophyllatus</i>	30	52	Bogart, 1973b
		<i>D. marmoratus</i>	30	52	Bogart, 1973b
		<i>D. meridianus</i>	30	58	Skuk & Langone, 1992
		<i>D. microcephalus</i>	30	58/60	Kaiser <i>et al.</i> , 1996
		<i>D. microps</i>	30	52	Beçak, 1968
	<i>D. minutus</i>	30	60	Bogart, 1973b	
	<i>Dendropsopus</i>	<i>D. nahdereri</i>	30	50	Gruber, 2002
		<i>D. nanus</i>	30	52	Rabello, 1970
		<i>D. parviceps</i>	30	54	Bogart, 1973b
		<i>D. parviceps</i>	30	52	Bogart, 1973b
		<i>D. phlebodes</i>	30	56	Bogart, 1973b
		<i>D. rubicundulus</i>	30	52	Gruber, 2002
		<i>D. ruschii</i>	30	56/57	Nunes, 2006
		<i>D. sanborni</i>	30	52	Skuk & Langone, 1992
	<i>Exerodonta</i>	<i>E. smaragdina</i>	24	48	Duellman, 1970
Hyla	<i>H. avivoca</i>		24	48	Wiley, 1982
	<i>H. annectans</i>		24	48	Li <i>et al.</i> , 1981
	<i>H. suweonensis</i>		24	48	Kuramoto, 1990
	<i>H. andersonii</i>		24	48	Wasserman, 1970
	<i>H. arborea</i>		24	48	Morescalchi, 1965
	<i>H. arenicolor</i>		24	48	Anderson, 1991
	<i>H. chinensis</i>		24	48	Anderson, 1991
	<i>H. chrysoscelis</i>		24	48	Bogart, 1973b
	<i>H. cinerea</i>		24	48	Anderson, 1991
	<i>H. euphorbiacea</i>		24	48	Duellman & Cole, 1965
	<i>H. eximia</i>		24	48	Duellman & Cole, 1965
	<i>H. femoralis</i>		24	48	Anderson, 1991
	<i>H. gratiosa</i>		24	48	Bogart, 1973b

Tabela 3 (cont.)

Subfamília	Gênero	Espécie	2n	NF	Referências
Hylinae	<i>Hyla</i>	<i>H. hallowellii</i>	24	48	Kuramoto, 1974
		<i>H. japonica</i>	24	48	Anderson, 1991
		<i>H. meridionalis</i>	24	48	Anderson, 1991
		<i>H. savignyi</i>	24	48	Anderson, 1991
		<i>H. squirella</i>	24	48	Bogart, 1973b
		<i>H. versicolor</i>	4n=48		Wasserman, 1970
	<i>Hypsiboas</i>	<i>H. albomarginatus</i>	24	48	Beçak, 1968
		<i>H. albopunctatus</i>	22	44	Beçak, 1968
		<i>H. bischoffi</i>	24	48	Beçak, 1968
		<i>H. faber</i>	24	48	Beçak, 1968
		<i>H. pardalis</i>	24	48	Bogart, 1973b
		<i>H. pulchellus</i>	24	48	Beçak, 1968
		<i>H. punctatus</i>	24	48	Bogart, 1973b
		<i>H. semiguttatus</i>	24	48	Foresti, 1972
		<i>H. fasciatus</i>	24	48	Bogart, 1973b
		<i>H. geographicus</i>	24	48	Foresti, 1972
		<i>H. joaquina</i>	24	48	Ananias, 1996
		<i>H. rosenbergi</i>	24	48	León, 1970
		<i>H. rufitelus</i>	24	48	Duellman, 1967
<i>H. caingua</i>	24	48	Ananias, 1996		
<i>H. cinerescens</i>	24	48	Bogart, 1973b		
<i>H. crepitans</i>	24	48	Rabello, 1970		
<i>H. polytaenius</i>	24	48	Rabello, 1970; presente estudo		
<i>H. prasinus</i>	24	48	Beçak, 1968		
<i>H. raniceps</i>	24	48	Rabello, 1970		
<i>H. bischoffi</i>	24	48	Raber, 2000		
<i>H. guentheri</i>	24	48	Raber, 2000		
<i>Isthmohyla</i>	<i>I. tica</i>	24	48	León, 1970	
	<i>I. lancasteri</i>	24	48	Anderson, 1991	
	<i>I. angustilineata</i>	24	48	León, 1970	
	<i>I. pictipes</i>	24	48	Duellman, 1970	
	<i>I. pseudopuma</i>	24	48	León, 1970	
	<i>I. rivularis</i>	24	48	León, 1970	
<i>Itapotihyla</i>	<i>I. langsdorffii</i>	24	48	Foresti, 1972; presente estudo	
<i>Osteopilus</i>	<i>O. brunneus</i>	24	48	Cole, 1974	
<i>Plectrohyla</i>	<i>P. arborescandens</i>	24	48	Duellman & Cole, 1965	
	<i>P. bistrincta</i>	24	48	Duellman & Cole, 1965	
	<i>P. robertsororum</i>	24	28	Duellman & Cole, 1965	
<i>Pseudacris</i>	<i>P. brachyphona</i>	24	48	Anderson, 1991	
	<i>P. brimleyi</i>	24	48	Anderson, 1991	
	<i>P. cadaverina</i>	24	48	Maxson & Jameson, 1968	
	<i>P. clarkii</i>	24	48	Bogart, 1973b	
	<i>P. crucifer</i>	24	48	Anderson, 1991	
	<i>P. nigrita</i>	24	48	Anderson, 1991	
	<i>P. ornata</i>	24	48	Anderson, 1991	
	<i>P. regilla</i>	24	48	Morescalchi, 1965	
	<i>P. streckeri</i>	24	48	Bogart, 1973b	
	<i>P. triseriata</i>	24	48	Anderson, 1991	
<i>Scinax</i>	<i>S. alter</i>	24	48	presente estudo	
	<i>S. argyreornatus</i>	24	48	presente estudo	

Tabela 3 (cont.)

Subfamília	Gênero	Espécie	2n	NF	Referências
Hylinae	<i>Scinax</i>	<i>S. brieni</i>	24	48	Bogart, 1973b
		<i>S. fuscomarginatus</i>	24	48	Rabello, 1970
		<i>S. fuscovarius</i>	24	48	Anderson, 1991
		<i>Scinax</i> sp.	24	48	Bogart, 1973b; presente estudo
		<i>S. hayii</i>	24	48	Beçak, 1968
		<i>S. perpusillus</i>	24	48	Bogart, 1973b
		<i>S. squalirostris</i>	24	48	Barrio & Pistol de Rubel, 1970
		<i>S. rostratus</i>	24	48	Bogart, 1973b
	<i>S. catharinae</i>	24	48	Bogart, 1973b	
	<i>Smilisca</i>	<i>S. baudini</i>	24	48	Bogart, 1973b
		<i>S. fodiens</i>	24	48	Cole, 1974
		<i>S. sordida</i>	24	48	Bogart, 1973b
	<i>Tlalocohyla</i>	<i>T. smithii</i>	24	48	Wiley, 1982
<i>T. loquax</i>		24	48	Duellman, 1970	
<i>Triprion</i>	<i>T. petasatus</i>	24	48	Cole, 1974	
Phyllomedusinae	<i>Phasmahyla</i>	<i>P. exilis</i>	26	52	presente estudo
		<i>P. burmeisteri</i>	26	52	Beçak & Denaro, 1970
		<i>P. distincta</i>	26	52	Kasahara et al., 1998
		<i>P. palliata</i>	26	52	Bogart, 1973b
		<i>P. rohdei</i>	26	52	Batistic, 1989
		<i>P. rohdei</i>	40	80	presente estudo
		<i>P. tarsius</i>	26	52	Bogart, 1973b
		<i>P. tetraploidea</i>	52	104	Beçak et al., 1970; Pombal & Haddad, 1992
	<i>Agalychinis</i>	<i>A. helenae</i>	26	52	Duellman & Cole, 1965
		<i>A. callidryas</i>	26	52	Duellman & Cole, 1965
	<i>Cruziohyla</i>	<i>C. calcarifer</i>	26	52	Duellman & Cole, 1965

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq processo 469.321/2000-8) pelo apoio financeiro e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos. Ao J. L. Gasparini e à equipe do Laboratório de Genética Animal da UFES (L. A. Baião, R. Paresque, W. P. de Souza, W. S. Rocha) pela coleta de alguns exemplares (licença de coleta 02009.00-1492/00, 021/2000 DIFAS/IBAMA).

Referências bibliográficas

ANANIAS, F. 1996. Caracterização cromossômica de espécies e subespécies de *Hyla* do grupo *pulchella* (Amphibia, Anura, Hylidae).

Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- ANDERSON, K. 1991. Chromosome evolution in Holarctic *Hyla* treefrogs. In M. G. Green & S. K. Sessions (eds.), *Amphibian cytogenetics and evolution*. Academic Press, San Diego, p. 299–331.
- BALDISSERA JR., F. A., OLIVEIRA, P. S. L. & KASAHARA, S. 1993. Cytogenetics of four Brazilian *Hyla* species (Amphibia: Anura) and description of a case with a supernumerary chromosome. *Revista Brasileira de Genética*, 16(2): 335–345.
- BARRIO, A. & PISTOL DE RUBEL, D. 1970. Características del cariotipo de los pseudidos (Amphibian, Anura). *Physis*, 29: 505–510.
- BATISTIC, R. F. 1989. Aspectos citogenéticos da evolução em *Phyllomedusa* (Anura - Amphibia). Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- BEÇAK, M. L. 1968. Chromosomal analysis of eighteen species of Anura. *Caryologia*, 21(3): 191–208.
- BEÇAK, M. L., DENARO, L. & BEÇAK, W. 1970. Polyploidy and mechanisms of karyotypic diversification in Amphibia. *Cytogenetics*, 9: 225–238.
- BOGART, J. P. 1973a. Method for obtaining chromosomes. *Caldasia*, 11: 29–40.
- BOGART, J. P. 1973b. Evolution of anuran karyotypes. In J. L. Vial (ed.), *Evolutionary Biology of the Anurans: Contemporary Research on Major Problems*. University of Missouri Press, Columbia, p. 337–349.
- CARAMASCHI, U., CRUZ, C. A. G. & FEIO, R. N. 2000. *Phasmahyla jandaia*. Distribution. *Herpetological Review*, 31(4): 251.
- COLE, J. C. 1974. Chromosome evolution in selected treefrogs, including casque-headed species (*Pternohyla*, *Tripriion*, *Hyla*, and *Smilisca*). *American Museum Novitates*, 2541: 1–10.
- CRUZ, C. A. G. 1990. Sobre as relações intergenéricas de Phyllomedusinae da Floresta Atlântica (Amphibia, Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 50(3): 709–726.
- DUELLMAN, W. E. 1967. Social organization in the mating call of some neotropical anurans. *American Midland Naturalist*, 77(1): 156–163.
- DUELLMAN, W. E. 1970. *The Hylid Frogs of Middle America*. Monographs, University of Kansas Museum of Natural History, Lawrence, 753 p.
- DUELLMAN, W. E. 2001. *The hylid frogs of Middle America*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca, 1159 p.

- DUELLEMAN, W. E. & COLE, C. J. 1965. Studies of chromosomes of some anuran Amphibians (Hylidae and Centrolenidae). *Systematic Zoology*, 14: 139–143.
- FAIVOVICH, J., HADDAD, C. F. B., GARCIA, P. C. A., FROST, D. R., CAMPBELL, J. A & WHEELER, W. C. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylineae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Musuem of Natural History*, 294: 1–239.
- FORESTI, F. 1972. Aspectos cromossômicos da família Hylidae (Amphibia-Anura). Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- FROST, D. R. 2007. *Amphibian Species of the World: an online reference* V3. <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php> (acesso em: 24 abr 2008)
- GRUBER, S. L. 2002. Estudos citogenéticos em espécies do gênero *Hyla* (Anura, Hylidae) dos grupos com $2n=24$ e $2n=30$, com técnicas de coloração diferencial. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo.
- HADDAD, C. F. B., POMBAL JR., J. P. & BATISTIC, R. 1994. Natural hybridization between diploid and tetraploid species of leaf-frogs, genus *Phyllomedusa* (Amphibia). *Journal of Herpetology*, 38(4): 425–430.
- HOWELL, W. M. & BLACK, D. A. 1980. Controlled-silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer; a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014–1015.
- KAISER, H., MAIS, C., BOLAÑOS F. & STEINLEIN, C. 1996. Chromosomal investigation of three Costa Rican frogs from the 30-chromosome radiation of *Hyla* with the description of a unique geographic variation in nucleolus organizer regions. *Genetica*, 98: 95–102.
- KASAHARA, S., SILVA, A. P. Z. & GRUBER, S. L. 1998. Use of lymphocyte cultures for BrdU replication banding patterns in anuran species (Amphibia). *Genetics and Molecular Biology*, 21(4): 471–476.
- KASAHARA, S., SILVA, A. P. Z., GRUBER, S. L. & HADDAD, C. F. B. 2003. Comparative cytogenetic analysis on four tree frog species (Anura, Hylidae, Hylineae), from Brazil. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 103: 155–162.
- KING, M., CONTRERAS, S. N. & HONEYCUTT, R. L. 1990. Variation within and between nucleolar organizer region in Australian hylid frogs

- (Anura) shown by 18S+28S in situ hybridization. *Genetica*, 80:17–29.
- KURAMOTO, M. 1974. Experimental hybridization between the brown frogs of Taiwan, the Ryukyu Islands and Japan. *Copeia*, 1974: 815–822.
- KURAMOTO, M. 1990. A list of chromosome number of anuran amphibians. *Bulletin of Fukuoka University of Education*, 39: 83–127.
- LEÓN, P. E. 1970. Report of the chromosome numbers of some Costa Rica anurans. *Revista de Biología Tropical*, 17: 119–124.
- LI, S. S., WANG, Y. X., LI, C. Y., WANG, R. F. & LIU, G. Z. 1981. A comparative investigation of the karyotypes from four amphibian species. *Zoological Research*, 2(1): 17–28.
- MAXSON, L. R. & JAMESON, D. L. 1968. A comparison of the chromosomes of *Hyla regilla* and *Hyla californiae*. *Copeia*, 1968: 704–707.
- MORESCALCHI, A. 1965. Il corredo cromosomico di *Hyla arborea arborea* (L.) e di *Hyla regilla* Baird and Girard: Il problema del cromosomi sessuali e l'evoluzione del cariotipo di *Hyla*. *Caryologia*, 18: 193–206.
- NUNES, R. R. A. 2006. Citogenética de anfíbios da família Hylidae do Espírito Santo. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- POMBAL, J. P. & HADDAD, C. F. B. 1992. Species in the *Phyllomedusa burmeisteri* group from eastern Brazil, with description of a new species (Amphibia, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 52: 217–219.
- RABELLO, M. N. 1970. Chromosomal studies in Brazilian anurans. *Caryologia*, 23: 45–49.
- RABER, S. C. 2000. Caracterização cromossômica de *Hyla bischoffi* e *Hyla guentheri* (Anura, Hylidae). Dissertação de mestrado, Universidade de Campinas, São Paulo.
- SKUK, G. & LANGONE, J. A. 1992. Los cromosomas de cuatro especies del género *Hyla* (Anura: Hylidae) com número diploide de $2n=30$. *Acta Zoologica Lilloana*, 41:165–171.
- WASSERMAN, A. O. 1970. Polyploidy in the common tree toad *Hyla versicolor* LeConte. *Science*, 167: 385–386.
- WILEY, J. E. 1982. Chromosome banding patterns of treefrogs (Hylidae) of the eastern United States. *Herpetologica*, 38: 507–520.