



UnB

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**Parâmetros da história de vida de uma população de *Proceratophrys*
goyana (Miranda-Ribeiro, 1937) (Anura: Odontophrynidae) no Brasil
Central.**

Fernanda Barros Passaglia

Brasília

07/2025



UnB

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**Parâmetros da história de vida de uma população de *Proceratophrys*
goyana (Miranda-Ribeiro, 1937) (Anura: Odontophrynidae) no Brasil
Central.**

Fernanda Barros Passaglia

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Orientador: Reuber Albuquerque Brandão

Brasília

07/2025

Parâmetros da história de vida de uma população de *Proceratophrys goyana* (Miranda-Ribeiro, 1937) (Anura: Odontophrynidae) no Brasil Central.

Fernanda Barros Passaglia

Reuber Albuquerque Brandão

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Aprovada por

Reuber Albuquerque Brandão - Presidente – UnB

Sarah Mângia Barros – UFMS

Hélio Ricardo da Silva – UFRRJ

Diego de Almeida da Silva – CONICET

Brasília

07/2025

Dedico este trabalho a todas as mulheres
que um dia sonham em ser cientistas

*“A compreensão do mundo natural é uma
fonte não apenas de grande curiosidade,
mas também de grande realização.”*

David Attenborough

Agradecimentos

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e estiveram presentes ao longo da minha trajetória, mostrando que a ciência não se faz sozinha.

À minha família, especialmente aos meus pais, Sérgio e Josanna, pelo incentivo, carinho e confiança em todas as etapas da minha vida. Ao meu avô, José Bento, que me inspirou a seguir essa linda profissão, e à minha avó, Ana Tereza, e ao meu irmão, Rafael, pelo apoio constante e torcida.

Ao meu parceiro de vida, Pedro Paulo de Queiroz, por toda contribuição e ajuda em todas as etapas do trabalho, carinho, incentivo, apoio incondicional e por me inspirar diariamente.

Ao meu orientador, Reuber Brandão, pelas palavras de incentivo, esclarecimentos em momentos de dúvidas e confiança para a realização do trabalho. Os melhores aprendizados sobre o campo e a história do nosso Cerrado permanecerão sempre comigo.

Ao Anderson De Lima, pelos ensinamentos histológicos, estatísticos e científicos, e pela parceria nos longos dias, madrugadas e fins de semana dedicados às amostras histológicas.

A Julia Klaczko, pela atenção, conselhos acadêmicos e constante disposição a ajudar.

Ao Lauro Jurgeaitis, proprietário da Volta de Serra, por apoiar a pesquisa e pela incrível recepção durante os trabalhos de campo. Que mais pessoas estejam dispostas a apoiar a pesquisa científica e a preservar o Cerrado.

A todos que ajudaram nos campos, especialmente a montar armadilhas e enfrentar carrapatos: Emayre Rebecca Campos, Pedro Paulo de Queiroz, Luís Felipe de Lima, Afonso Santiago Meneses, Isabella Parreira, Isabela Orcelli, Bruno Corrêa, Izadora Galera, Alyssa Lyra, Eduarda Santos, Arthur Sampaio, Nathalia Brisa, Bárbara Doche, Reuber Brandão. Vocês tornaram o campo mais leve e divertido.

Aos amigos do LAFUC e agregados que tornaram os dias de trabalho mais divertidos com café e fofocas: Emayre Rebecca Campos, Pedro Paulo de Queiroz, Luís Felipe de Lima, Afonso Santiago Meneses, Isabella Parreira, Isabela Orcelli, Bruno Corrêa, Isabelle Feijão, Milena Leite, Isabela Castro, Leonardo Ferreira, Alyssa Lyra, Bárbara Doche, Angie Marcela Rengifo, Tarcillã Valtuille, Giovanna Cambui, Cecília Bueno, Cibelle Henriques, Maiara Lisboa, Murielly Coimbra, João Victor Bicca, Anderson De Lima, Reuber Brandão.

A todos que ajudaram nas intermináveis lâminas histológicas: Anderson De Lima, Pedro Paulo de Queiroz, Alyssa Lyra, Isabela Orcelli, Gabriela Marins, Isabella Parreira, Cecília Bueno, Andrena Almeida Juliane Yurika.

As minhas amigas que por mais que não sejam da área, estavam presentes: Yas, Luanna, Paresoto e Paola.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela bolsa – Código de Financiamento 001 (Processo nº 88887.984812/2024-00)

Ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia pelo apoio logístico e burocrático.

Ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio) pela licença (nº 90375-1).

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
Introdução	1
Material e métodos	5
Atividade de Campo	5
Material Examinado	6
Osteocronologia.....	7
Cálculo de reabsorção	7
Parâmetros da história de vida	10
Análises	10
Resultados	11
Reabsorção	11
Parâmetros da história de vida e estrutura etária	12
Ontogenia gonadal	17
Maturidade e dimorfismo sexual	19
Discussão	21
Viabilidade e limitações da osteocronologia em <i>P. goyana</i>	21
Parâmetros da história de vida	24
Ontogenia gonadal	27
Dimorfismo sexual, crescimento e maturidade	27
Conclusões	30
Referências bibliográficas	31

RESUMO

Parâmetros da história de vida de uma população de *Proceratophrys goyana* (Miranda-Ribeiro, 1937) (Anura: Odontophrynidae) no Brasil Central.

Fernanda Barros Passaglia

Reuber Albuquerque Brandão

Resumo da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Zoologia.

A história de vida de um organismo é composta por parâmetros como idade de maturação sexual, longevidade e tamanho na maturidade, que são informações essenciais para entender a dinâmica das populações e apoiar medidas de conservação. A osteocronologia, técnica baseada na contagem de Linhas de Suspensão do Crescimento (LAGs), é eficaz na estimativa da idade em anfíbios, especialmente anuros, mas ainda subutilizada em espécies do Cerrado. Considerando a elevada diversidade de anuros e os crescentes impactos antrópicos neste bioma, é urgente ampliar estudos sobre a história de vida de espécies endêmicas, a fim de preencher lacunas e de auxiliar na formulação de estratégias para a conservação de espécies. Este trabalho teve como objetivo determinar parâmetros da história de vida de uma população de *Proceratophrys goyana*, espécie endêmica do Cerrado, por meio da osteocronologia. Entre agosto de 2023 e fevereiro de 2024 foram coletados 116 indivíduos, na Chapada dos Veadeiros (GO), localidade-tipo da espécie. Os espécimes foram sexados por meio de observação direta de caracteres secundários e gônadas; mensurados quanto ao tamanho corporal (CRC), pesados e avaliados quanto à maturidade sexual. A idade foi estimada por contagem de LAGs em cortes histológicos do fêmur corados com H&E, e a reabsorção foi corrigida por

protocolo que compara os perímetros das LAGs com o da linha de reabsorção (RL). A osteocronologia demonstrou ser uma metodologia viável para estimar a idade da espécie, a despeito da alta taxa de reabsorção de LAGs. O cálculo de reabsorção permitiu estimativas mais precisas da idade, com a deposição de LAGs ocorrendo anualmente, em sincronia com a sazonalidade do Cerrado. Existe dimorfismo sexual na espécie, com fêmeas maiores ($57,21 \pm 3,20$ mm) que os machos ($39,11 \pm 3,54$ mm). A longevidade estimada foi de até sete anos para machos e até oito anos para fêmeas, com a idade de maturidade sexual de um ano para machos e dois anos para fêmeas. O tamanho médio na maturidade foi de 39,11 mm para machos e 57,21 para fêmeas, reforçando o dimorfismo sexual no tamanho (SSD) enviesado para fêmeas. A expectativa de vida reprodutiva potencial foi de seis anos para ambos os sexos. As curvas de crescimento revelaram padrões distintos, com machos apresentando maior taxa de crescimento ($k=1,03$), mas com menor tamanho assintótico (41,41mm), enquanto fêmeas cresceram mais lentamente ($k=0,38$), mas atingiram maior tamanho assintótico (65,16mm), mantendo o crescimento mais acentuado após a maturidade. A regressão logística penalizada indicou que, nos machos, a idade foi um preditor mais forte da maturidade, enquanto, nas fêmeas, o tamanho corporal foi o fator mais determinante, com a transição da maturidade ocorrendo entre 50 e 55mm. Os resultados corroboram padrões amplamente registrados em anuros, onde machos amadurecem mais cedo, enquanto fêmeas priorizam o crescimento contínuo para maximizar a fecundidade. Este estudo representa a primeira investigação detalhada da história de vida de *P. goyana* e reforça a importância de estudos semelhantes em anuros, especialmente no contexto de rápida perda de biodiversidade no bioma Cerrado.

Palavras-chave: Osteocronologia; Longevidade; Dimorfismo sexual; Maturidade sexual; Cerrado

ABSTRACT

Life-history traits of a population of *Proceratophrys goyana* (Miranda-Ribeiro, 1937) (Anura: Odontophrynidae) in Central Brazil.

Fernanda Barros Passaglia

Reuber Albuquerque Brandão

Abstract da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Zoologia.

The life history of an organism encompasses traits such as age at sexual maturity, longevity, and size at maturity, which are essential information to understand population dynamics and support conservation strategies. Skeletochronology, a technique based on the count of Lines of Arrested Growth (LAGs), is effective in estimating age in amphibians, especially anurans, but is still underused in species from the Cerrado. Given the high anuran diversity and the increasing anthropogenic impacts in this biome, it is urgent to expand life history studies of endemic species to fill gaps and support in the formulation of conservation strategies. This study aimed to determine life history traits of a population of *Proceratophrys goyana*, an endemic species of the Cerrado, through skeletochronology. Between August 2023 and February 2024, 116 individuals were collected in Chapada dos Veadeiros (GO), the type locality of the species. Specimens were sexed by direct observation of secondary characteristics and gonads; snout-vent length (SVL) was measured, individual were weighed, and sexual maturity was assessed. Age was estimated by counting LAGs in histological sections of the femur stained with H&E, and resorption was corrected using a protocol based on the comparison between the perimeters of the LAGs and the resorption line (RL). Skeletochronology proved to be a viable method for

age estimation in this species, despite the high rate of LAG resorption. The reabsorption correction protocol allowed more accurate age estimates, with LAG deposition occurring annually, in synchrony with the seasonality of the Cerrado. Sexual dimorphism was found in the species, with females larger (57.21 ± 3.20 mm) than males (39.11 ± 3.54 mm). Estimated longevity was up to seven years for males and up to eight years for females, with age at sexual maturity of one year for males and two years for females. The average size at maturity was 39.11 mm for males and 57.21 mm for females, reinforcing female-biased sexual size dimorphism (SSD). The potential reproductive lifespan was six years for both sexes. Growth curves revealed distinct patterns, with males showing a higher growth rate ($k = 1.03$) and lower asymptotic size (41.41 mm), while females grew more slowly ($k = 0.38$), but reached a larger asymptotic size (65.16 mm), maintaining more accentuated growth after maturity. Penalized logistic regression indicated that while maturity in males was better predicted by age, in females body size was the most determining factor, with the transition to maturity occurring between 50 and 55 mm. The results corroborate patterns widely documented in anurans, in which males mature earlier while females prioritize continuous growth to maximize fecundity. This study represents the first detailed investigation of the life history of *P. goyana* and reinforces the importance of similar studies in anurans, especially in the context of rapid biodiversity loss in the Cerrado biome.

Key-words: Skeletochronology; Longevity; Sexual dimorphism; Sexual maturity; Cerrado

Introdução

A história de vida de um organismo consiste, basicamente, nos padrões de crescimento, desenvolvimento, armazenamento e reprodução (Begon et al., 1996). Esses padrões biológicos são, por sua vez, compostos por diversos parâmetros, tais como, a idade de maturação sexual, a longevidade e o tamanho na maturidade sexual (Stearns, 1992). Estes parâmetros determinam diretamente os índices de sobrevivência e reprodução, sendo assim componentes principais da aptidão (*fitness*) e demografia das populações (Stearns, 1992). Em consequência, a caracterização da história de vida é essencial para compreender a dinâmica populacional, a estrutura etária e suas respostas a mudanças ambientais (Yetman et al., 2012; Yildiz & Göcmen, 2012). Em contextos de conservação, conhecer a história de vida permite avaliar a vulnerabilidade de uma população a pressões como urbanização e poluição, podendo servir de base para o manejo de espécies endêmicas ou ameaçadas (Morrison & Hero, 2003; Sinsch et al., 2007; Yetman et al., 2012; Marín-Moratalla et al., 2013).

Entre os desafios do estudo da história de vida está a estimativa de idade dos indivíduos. A idade de vertebrados pode ser estimada utilizando diversas metodologias, como a técnica de marcação e recaptura (Casale et al., 2009) e a osteocronologia (Patón et al., 1994; Castanet, 2002; Nacarino-Meneses et al., 2016; Guarino et al., 2020). No entanto, a marcação e recaptura, além da aleatoriedade das recapturas, depende de longo período de acompanhamento dos organismos na natureza, o que nem sempre é possível (Durham & Bennett, 1963). Desta forma, a osteocronologia surge como alternativa eficiente que permite acessar a idade dos organismos mais rapidamente, não sendo necessário o acompanhamento dos indivíduos ao longo dos anos (Halliday & Verrell, 1988).

A determinação de idade na osteocronologia é baseada na contagem das Linhas de Suspensão do Crescimento (LAGs), que representam momentos de interrupções no crescimento ósseo. Essas interrupções estão correlacionadas com o ciclo circanual, sincronizado com os padrões sazonais, como os períodos de hibernação nos ambientes temperados e o regime de precipitação em ambientes tropicais (Castanet et al., 1993; Khonsue et al., 2000; Sinsch &

Dehling, 2017), permitindo estimar a idade dos organismos. Essa metodologia vem sendo aplicada com sucesso em diversos grupos animais como mamíferos (Marín-Moratalla et al., 2013), répteis (Guarino et al., 2020), peixes (Patón et al., 1994) e em anfíbios (Castanet, 2002). Como a deposição de LAGs ocorre anualmente em anfíbios anuros, a osteocronologia permite estimativas confiáveis de idade nesse grupo (Smirina, 1972; Smirina, 1994; Sinsch, 2015; Sinsch & Dehling, 2017; Parreira et al., 2025).

No entanto, fatores como a reabsorção endosteal podem comprometer a visibilidade das LAGs mais internas, subestimando a idade real (Hemelaar, 1985; Castanet & Smirina, 1990). Esse processo de remodelação óssea pode apagar os anéis de crescimento formados nos primeiros anos de vida, especialmente à medida que o osso se expande e a cavidade medular se alarga (Smirina, 1994, Rozenblut & Ogielska, 2005). Para contornar esse viés, alguns estudos têm proposto métodos comparativos entre o tamanho das LAGs e da cavidade medular para inferir quantos anéis de crescimento foram perdidos (Hemelaar, 1985; Kumbar & Pancharatna, 2001; Rozenblut & Ogielska, 2005; Santos, 2016).

Além da reabsorção, a própria preparação histológica dos ossos pode gerar artefatos no tecido, dificultando a contagem e medição das LAGs (Hemelaar, 1985; Cvetkovic et al., 2005). Deformações são comuns durante o processo de descalcificação, inclusão em parafina e microtomia (Thompson & Luna, 1978; Rastogi et al., 2013), podendo comprometer a morfologia das linhas e sua mensuração em softwares de imagem. Entre os artefatos comumente observados estão expansão e rachaduras do tecido, dobras no corte e coloração fraca das linhas de crescimento (Thompson & Luna, 1978; Hemelaar, 1985; Cvetkovic et al., 2005), que podem interferir na padronização da análise entre indivíduos. Assim, a escolha criteriosa das lâminas com menos artefatos e menor cavidade medular é essencial para garantir a confiabilidade das estimativas de idade (Miaud et al., 1999; Cvetkovic et al., 2005; Sinsch, 2015). Com estimativas mais confiáveis de idade, é possível determinar os parâmetros da história de vida com maior precisão e identificar padrões diferenciais entre machos e fêmeas dentro de uma mesma população (Cvetkovic et al., 2005).

Parâmetros como a longevidade e idade de maturidade sexual podem influenciar o dimorfismo sexual em anuros, uma vez que afetam o tamanho

corporal dos indivíduos (Halliday & Verrell, 1988; Sinsch et al., 2010). Como o crescimento corporal tende a desacelerar quando a maturidade é atingida, a idade em que isso ocorre é um fator crucial na definição do tamanho final (Halliday & Verrell, 1988; Sinsch et al., 2010; Liao & Lu, 2010; Zornosa-Torres & Hoyos, 2016). Em muitas espécies de Anura é observado um padrão de diferenças entre os sexos, com 90% apresentando dimorfismo sexual no tamanho (SSD) enviesado para as fêmeas, ou seja, com fêmeas maiores que os machos (Shine, 1979). Isso pode ser explicado pela tendência de fêmeas crescerem por mais tempo antes de maturar (Reading, 1991; Sinsch, 2015), atingindo maior tamanho corporal na reprodução (Reading, 1991; Zornosa-Torres & Hoyos, 2016) e aumentando a capacidade de produzir ninhadas maiores (Shine, 1979; Han & Fu, 2013). Por outro lado, os machos geralmente amadurecem mais cedo (Reading, 1991; Sinsch, 2015) e com tamanho menor (Reading, 1991; Zornosa-Torres & Hoyos, 2016). Esse dimorfismo pode ser decorrente não apenas do crescimento mais acentuado nas fêmeas, mas também da maturação precoce e maior mortalidade entre os machos, que os mantêm menores ao atingir a fase adulta (Shine, 1979; Shirosé et al., 1993; Monroe & Alonzo, 2014). Portanto, a forma como o crescimento corporal se dá ao longo da vida influencia a interpretação dos dados etários e reprodutivos.

O modelo de von Bertalanffy (1938) é amplamente utilizado por representar o crescimento como uma função assintótica, onde o tamanho corporal se aproxima de um valor máximo teórico à medida que a idade aumenta (Liao & Lu, 2010; de Bionda et al., 2015; Gustafson et al., 2015; Otero et al., 2017; Baraquet et al., 2018; Parreira et al., 2025). No entanto, a equação original parte do pressuposto de que o organismo inicia seu crescimento a partir do tamanho zero, o que não corresponde à realidade dos anuros, que, ao completarem a metamorfose, possuem tamanho corporal mensurável (Hemelaar, 1988). Para contornar esse problema, Hemelaar (1988) propôs uma modificação da equação original, incorporando um parâmetro de tamanho inicial (S_0). Essa versão ajustada permite modelar o crescimento a partir de um tamanho conhecido, como o comprimento rostro-cloacal (CRC) de indivíduos recém-metamorfoseados. Com isso, essa equação permite descrever trajetórias de crescimento compatíveis com ambientes nos quais o crescimento é

interrompido periodicamente. Em regiões temperadas a formação das LAGs está associada ao inverno e à hibernação (Castanet et al., 1993), enquanto em regiões tropicais, como o bioma Cerrado, os pulsos de crescimento estão relacionados à estação chuvosa, quando os anuros se tornam mais ativos (Khonsue et al., 2000; Kopp et al., 2010; Sinsch & Dehling, 2017).

O Bioma Cerrado é marcado pela elevada heterogeneidade ambiental e forte sazonalidade hídrica (Ribeiro & Walter, 2008), influenciando a ecologia e o ciclo de vida dos anuros (Oda et al., 2009; Kopp et al., 2010; Gambale et al., 2014). Apesar da elevada diversidade de anuros, com cerca de 259 espécies registradas e quase metade endêmica (Guedes, 2023), o uso da osteocronologia é restringido para dois estudos (Arantes et al., 2025; Parreira et al., 2025). Dada a singularidade ecológica do Cerrado e sua intensa degradação por expansão agropecuária (Klink & Machado, 2005), é importante ampliar estudos que investiguem a história de vida de espécies nativas e endêmicas, a fim de compreender sua biologia e embasar possíveis estratégias de conservação.

A espécie *Proceratophrys goyana* (Anura: Odontophrynidae) é endêmica do Cerrado, ocorrendo em áreas do norte e oeste de Goiás e no Distrito Federal (Vaz-Silva et al., 2020). É caracterizada pela presença de um cordão de grânulos óculo-dorsal completo e simétrico, se reproduz em ambientes lóticos e habita áreas florestais (Miranda-Ribeiro, 1937; Brandão et al., 2013; Martins & Giaretta, 2013; Santoro & Brandão, 2014; Vaz-Silva et al., 2020). Atualmente, os estudos sobre essa espécie são limitados, incluindo informações de comportamento reprodutivo (Santoro & Brandão, 2014; Carvalho et al., 2020) e defensivo (Meneses & Corrêa, 2020), descrição do canto e redescritção da espécie (Miranda-Ribeiro, 1937; Martins & Giaretta, 2013). Aspectos fundamentais de sua biologia, como longevidade, a maturação sexual e a estrutura etária das populações, permanecem desconhecidos. Considerando sua distribuição restrita e o contexto de degradação de seu habitat, o entendimento desses parâmetros constitui a base para preencher lacunas de conhecimento e embasar estratégias efetivas de conservação (Guarino & Erismis, 2008; Yetman et al., 2012; Abadie, 2015).

Diante disso, buscamos determinar os parâmetros da história de vida de uma população de *Proceratophrys goyana* na Chapada dos Veadeiros, norte de

Goiás. Para isso, visamos: (1) testar a viabilidade da osteocronologia para a estimativa de idade em *P. goyana*; (2) determinar a estrutura etária da população, a idade e o tamanho na maturidade dos indivíduos; (3) determinar a expectativa de vida reprodutiva potencial e a expectativa de vida mediana dos indivíduos; (4) verificar a relação entre idade e tamanho corporal; e (5) verificar o efeito do tamanho corporal e da idade sobre a maturidade dos indivíduos.

Material e Métodos

Atividade de Campo

Foram coletados 116 indivíduos de *Proceratophrys goyana*, sendo 45 fêmeas e 71 machos. A identificação dos espécimes foi feita com base em Miranda-Ribeiro (1937), Martins & Giaretta (2013) e Vaz-Silva et al. (2020).

O estudo foi realizado no Santuário de Vida Silvestre Volta da Serra (SVSVS), localizado no município de Alto Paraíso de Goiás. A coleta foi realizada ao longo do Ribeirão São Miguel, considerado a localidade tipo da espécie estudada (Miranda-Ribeiro, 1937). O município de Alto Paraíso de Goiás registrou precipitação média de 1409 mm entre 1969 e 2018, sendo que a estação seca corresponde aos meses de maio a setembro, enquanto a estação chuvosa corresponde ao período de novembro a fevereiro, sendo outubro e abril considerados meses de transição entre estações (Machado & Assis, 2020).

As amostragens em campo iniciaram em agosto de 2023 e foram encerradas em fevereiro de 2024, ocorrendo, preferencialmente, uma vez ao mês. Com isso, as coletas de dados abrangeram o final do período de seca e grande parte do período chuvoso.

A coleta dos espécimes foi realizada utilizando busca ativa e armadilhas de queda (Cechin & Martins, 2000; Heyer et al., 1994). A busca ativa consistiu na procura por indivíduos em atividade próximos ao rio. As armadilhas de interceptação e queda (Pitfall) foram compostas por quatro baldes com distantes cinco metros cada. As coletas foram realizadas em três pontos do SVSVS. No ponto 1 (A1) foram instaladas duas armadilhas, no ponto 2 (A2) foram instaladas quatro armadilhas e no ponto 3 (A3) foram instaladas quatro armadilhas. As buscas ativas ocorreram nas proximidades de cada um desses pontos (Figura 1).

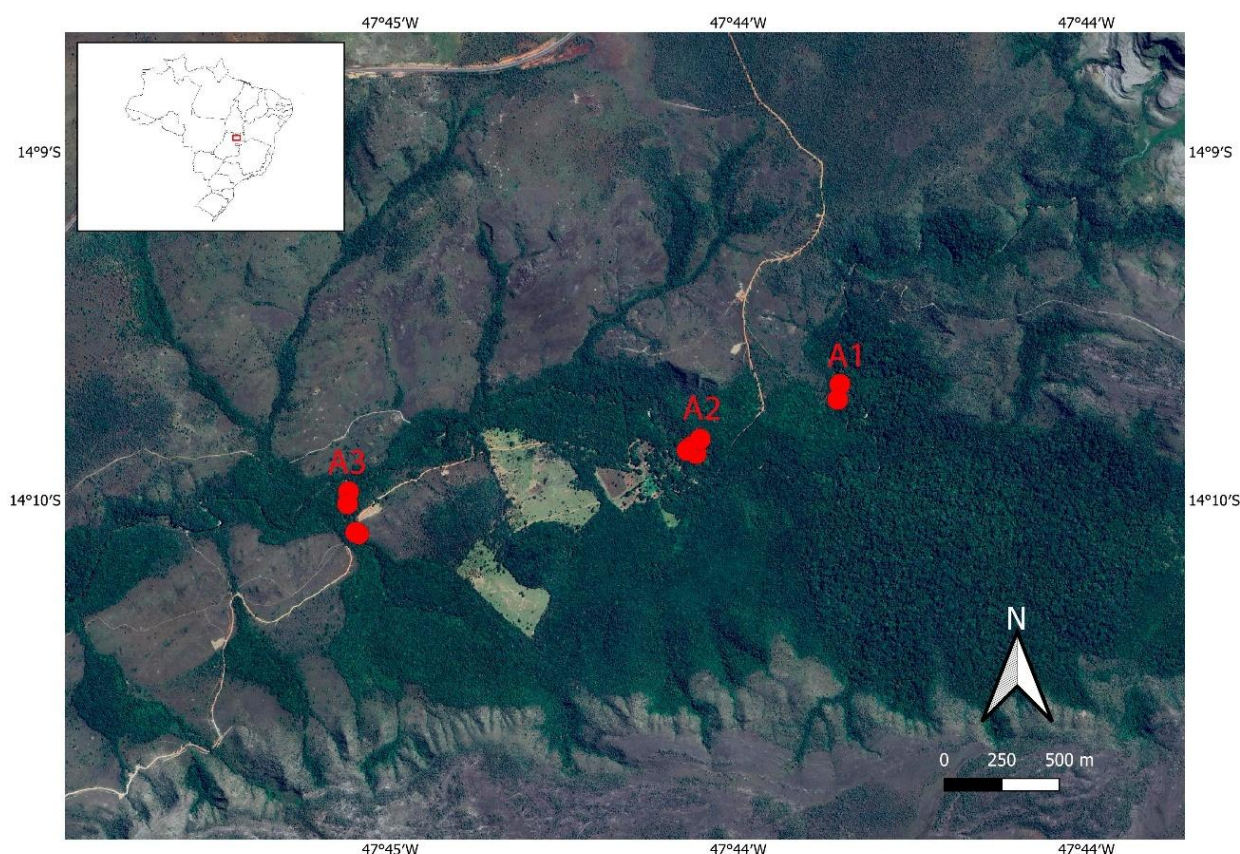


Figura 1: Mapa contendo a imagem de satélite da localização das armadilhas de interceptação e queda nas áreas 1 (A1), 2 (A2) e 3 (A3).

Material Examinado

Os indivíduos foram fixados em formalina 10% tamponada, transferidos para etanol 70% e, posteriormente, serão depositados na Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília (CHUNB). As medidas de tamanho corporal seguiram Duellman (1970), utilizando paquímetro digital (precisão de 0.01 mm). A massa dos indivíduos foi determinada com dinamômetros portáteis (Pesola® de 10 g e de 50 g).

A maturidade das fêmeas foi determinada por caracteres primários, como a presença de ovócitos pós-vitelogênicos (Brum, 2019; Olea, et al., 2021). A dos machos foi determinada por caracteres primários como presença de espermatozoides livres nos testículos e de caracteres secundários, como a presença de saco vocal (Guarino et al., 2003; Goldberg, 2015; Cheij et al., 2024).

Para a histologia, cada testículo passou por desidratação, em série crescente de etanol (70%, 90% e 100%, respectivamente), clarificação em xilol, emblocamento em parafina e cortes transversais semi-seriados em micrótomo

rotativo Leica, com espessura de 3-7 μm . A coloração utilizada foi hematoxilina-eosina (Bancroft & Gamble, 2002) e a presença de espermatozoides foi averiguada utilizando microscópio óptico com aumento de 100x e 400x.

Osteocronologia

Cada indivíduo coletado teve o fêmur da perna direita removido. As amostras passaram pelo processo de descalcificação em solução de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 5% durante 15 dias, com troca de solução a cada sete dias. Após isso, as amostras passaram por desidratação, em série crescente de etanol (70%, 90% e 100%, respectivamente), clarificação em xilol e, por último, emblocamento em parafina.

Após o emblocamento, foram feitos cortes semi-seriados em micrótomo rotativo Leica com espessura de 3-10 μm no plano transversal. Foram produzidas 10 lâminas de cada indivíduo, com o intuito de localizar as diáfises do fêmur. Após a adesão dos cortes em lâminas de vidro (6h a 60°C em estufa), as amostras foram coradas com hematoxilina-eosina (Bancroft & Gamble, 2002).

As lâminas foram examinadas em microscópio óptico, com aumentos de 100x a 400x. De uma a três lâminas foram selecionadas para documentação fotográfica, em câmera acoplada e, posteriormente, utilizadas para as análises. As lâminas preferenciais foram selecionadas com base no menor tamanho da cavidade medular, a fim de minimizar a perda de LAGs por reabsorção endosteal (Liao & Lu, 2010).

Cálculo de reabsorção

Foi realizado um cálculo de reabsorção para estimar LAGs perdidas pela remodelação óssea a partir dos métodos de Hemelaar (1985), Kumbar e Pancharatna (2001) e Santos (2016), com modificações, conforme se segue:

1. Aquisição de dados

Para cada indivíduo, foram selecionados, preferencialmente, três cortes transversais de fêmur com mínima deformação óssea. As lâminas foram digitalizadas em scanner de alta resolução Evos (ThermoFisher). No software ImageJ (v. 1.54) a escala foi calibrada em 400 μm e para cada corte foram tomadas as medidas do perímetro de até três LAGs visíveis e do

perímetro da linha de reabsorção (linha que divide o periosteio e a medula) (RL). O valor de cada medida foi determinado pela média aritmética das imagens disponíveis.

2. Definição de intervalos de referência

Foram utilizados três indivíduos por LAG devido ao número limitado de indivíduos por classe e para padronização dos dados.

2.1. Intervalo de referência da LAG1

Para determinar o intervalo da LAG1 não é necessária a separação entre sexos. Foram selecionados três indivíduos com os menores perímetros de LAG e, preferencialmente, sem deformações no corte. Foi calculada a média e o intervalo de confiança de 95% (IC) (Equação 1). O perímetro máximo (Pml1) foi definido como a média somada ao IC.

$$IC = t_{(0.975,n-1)} \times \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Equação 1. Equação do intervalo de confiança de 95%, onde: IC= intervalo de confiança de 95%; n= número de amostras (indivíduos); s= desvio padrão da amostra; t= quantil da distribuição t de Student para nível de confiança de 95%

2.2. Intervalo de referência da LAG2

Para determinar o intervalo da LAG2 foi necessário determinar um padrão para machos e outro para fêmeas. Foram selecionados, dentre os que apresentaram reabsorção da LAG1 (RL> Pml1), os três indivíduos com os menores perímetros e, preferencialmente, ausência de deformação no corte. Foi calculada a média e o IC para determinar o perímetro máximo da LAG2 (Pml2).

2.3. Intervalo de referência da LAG3

Para determinar o intervalo da LAG3, também separando machos e fêmeas, foram selecionados três indivíduos com o menor perímetro entre aqueles que apresentaram reabsorção da LAG2 (RL>Pml2). Foi aplicado o mesmo cálculo de média e IC para determinar o perímetro máximo da LAG3 (Pml3).

2.4. Intervalo de referência da LAG4 (exclusivo para fêmeas)

A determinação do intervalo da LAG4 só foi necessária para as fêmeas, visto que os machos não apresentaram quatro LAGs reabsorvidas. Foram selecionados os três indivíduos que apresentaram reabsorção da LAG3 ($RL > Pml3$), com os menores perímetros de LAG 4. Foi calculada a média e o IC e determinado o perímetro máximo da LAG4 ($Pml4$).

3. Inferência de reabsorção e determinação de idade

Em cada indivíduo foi comparada a linha de reabsorção (RL) com o padrão de referência para as LAGs.

3.1. Inferência de reabsorção LAG1:

- a. Se a $RL < Pml1$, é considerado que não houve reabsorção e a idade pode ser contada pelo número de LAGs visíveis.
- b. Se a $RL > Pml1$, o valor é comparado com a LAG2. Segue-se para o passo 3.2.

3.2. Inferência de reabsorção LAG2:

- a. Se $RL < Pml2$, é considerado que a LAG2 não foi reabsorvida e a idade pode ser contada pelo número de LAGs visíveis + 1.
- b. Se $RL > Pml2$, é considerada que a LAG2 foi reabsorvida e segue para o passo 3.3;

3.3. Inferência de reabsorção LAG3:

- a. Se $RL < Pml3$ é considerado que a LAG3 não foi reabsorvida e a idade pode ser contada pelo número de LAGs visíveis + 2;
- b. Se $RL > Pml3$ é considerado que a LAG3 foi reabsorvida. Segue para a comparação descrita no passo 3.4;

3.4. Inferência de reabsorção LAG4:

- a. Se $RL < Pml4$ é considerado que a LAG4 não foi reabsorvida e a idade pode ser contada pelo número de LAGs visíveis + 3;
- b. Se $RL > Pml4$ é considerado que a LAG4 foi reabsorvida e a idade pode ser contada pelo número de LAGs visíveis + 4.

Parâmetros da história de vida

Os cinco parâmetros da história de vida foram selecionados com base na literatura (Leskovar et al, 2006; Bionda et al, 2015; Otero et al 2017), sendo eles: (1) idade na maturidade, entendida como o número mínimo de LAGs contadas em indivíduos maduros; (2) longevidade, como sendo o número máximo de LAGs contadas; (3) a expectativa de vida reprodutiva potencial (EVRP), como sendo a diferença entre longevidade e idade de maturidade; (4) o tamanho na maturidade, dado pela média do CRC de todos os indivíduos maduros com o mínimo de LAGs e (5) a expectativa de vida mediana, correspondendo à mediana da distribuição de idade.

Análises

Todas as análises foram feitas no software R v 4.4.0 (R Core Team, 2024). Foram feitos testes paramétricos quando os dados atenderam às premissas de normalidade e homogeneidade de variância, enquanto testes não-paramétricos em caso contrário. Aplicamos teste t para avaliar o dimorfismo sexual no tamanho corporal (CRC), utilizando apenas indivíduos maduros. Para avaliar a relação entre idade e tamanho foi feita uma regressão linear para cada um dos sexos. Além disso, foi feito um modelo de regressão linear sem e outro com interação entre as covariáveis para avaliar, respectivamente, a diferença de tamanho na mesma classe de idade e o aumento de tamanho por classe de idade de machos e fêmeas.

A taxa de crescimento foi estimada de acordo com o modelo de crescimento de von Bertalanffy (1938). A fórmula utilizada foi a adaptada por Hemelaar (1988): $St = Smax - (Smax - S0)e^{-k(t-t0)}$, onde t = idade estimada em anos, t0 = idade na metamorfose, St= tamanho na idade t (em mm), Smax= tamanho máximo assintótico, S0= tamanho na metamorfose, fixado em 13,98 (média do CRC de indivíduos recém-metamorfoseados), k= coeficiente de crescimento.

Para avaliar a probabilidade de maturidade (0 = imaturo; 1 = maduro) em função do comprimento rostro-cloacal (CRC) e número de LAGs foram ajustados modelos de regressão logística. Em uma análise prévia, foi observada a separação perfeita dos dados em alguns modelos (com valores previstos de 0

ou 1), o que inviabiliza o uso da regressão logística tradicional. Para contornar esse problema, foi utilizada regressão logística penalizada implementada no pacote “brglm2”, utilizando o método “brglmFit” com penalização “AS_mixed”, que reduz o viés dos coeficientes estimados em casos de separação completa (Kosmidis & Firth, 2021). Os modelos foram ajustados separadamente para machos e fêmeas.

Resultados

Reabsorção

Dos 116 indivíduos, 43 machos (60,6%) e 37 fêmeas (82,22%) apresentaram algum grau de reabsorção óssea (Tabela 1). Em alguns indivíduos foi observada a reabsorção parcial das LAGs (Figura 2C), indicando que o processo de remodelamento ósseo é contínuo ao longo da vida.

Tabela 1: Número de linhas totalmente ou parcialmente reabsorvidas (NRL) dos indivíduos de *Proceratophrys goyana* coletados na Chapada dos Veadeiros, Alto Paraíso, GO.

NRL	Fêmeas	Machos
0	8	28
1	13	34
2	14	7
3	6	2
4	2	-
5	2	-

Nas fêmeas, a reabsorção ocorre em todos os indivíduos a partir do segundo ano de vida, apresentando a perda de pelo menos uma LAG. A partir dos quatro anos, todas reabsorveram no mínimo duas LAGs, e a partir dos seis anos, pelo menos três. Nos machos o padrão é variável, mas a partir dos quatro anos todos os indivíduos apresentam ao menos uma LAG reabsorvida.

O tamanho da LAG2 nas fêmeas apresentou intervalo de confiança mais amplo (Tabela 2), refletindo também maior variação no tamanho corporal nesse estágio etário (Tabela 3).

Tabela 2: Valores de referência, em micrometros (μm), utilizados para o cálculo de reabsorção. LAG= Linha de Suspensão do Crescimento; IC= Intervalo de confiança; P= Média aritmética do perímetro.

LAG	Fêmeas		Machos	
	P	IC	P	IC
1	1675,96	45,70	1675,96	45,70
2	2170,44	342,55	1973,81	83,64
3	2813,87	154,24	2206,24	121,81
4	3191,38	64,42	-	-

Tabela 3: Resumo dos valores de tamanho corporal (CRC) e número de indivíduos (n), maduros (MA) e imaturos (IM), por classe de idade (número de LAGs). Os valores de CRC estão em milímetros (mm) e expressos como média \pm desvio padrão.

Idade	Fêmeas				Machos			
	n	CRC	IM	MA	n	CRC	IM	MA
0	6	19,08 \pm 6,73	6	0	10	21,28 \pm 6,16	10	0
1	3	28,83 \pm 5,24	3	0	8	32,68 \pm 4,04	2	6
2	9	42,64 \pm 6,71	8	1	26	38,7 \pm 2,32	0	26
3	12	51,41 \pm 5,71	4	8	22	40,30 \pm 3,2	0	22
4	6	54,68 \pm 4,33	2	4	2	41,08 \pm 0,47	0	2
5	3	61,04 \pm 2,38	0	3	0	-	-	-
6	3	58,12 \pm 0,83	0	3	2	42,75 \pm 4,55	0	2
7	1	59,43	0	1	1	45,32	0	1
8	1	63,37	0	1	0	-	-	-

Parâmetros da história de vida e estrutura etária

Todos os indivíduos estudados apresentaram estruturas ósseas que permitiram a determinação de idade. Em imagens, os cortes apresentaram uma grande cavidade medular, ainda com a presença de tecido cartilaginoso e ausência de LAGs (Figura 1A). Indivíduos considerados 0 anos apresentavam tamanho corporal reduzido, matriz óssea formada, grande cavidade medular e ausência de LAGs (Figura 1B). As fêmeas começam a indicar tamanho maior que os machos para a mesma classe de idade a partir do segundo ano (Figura 2; Tabela 3).

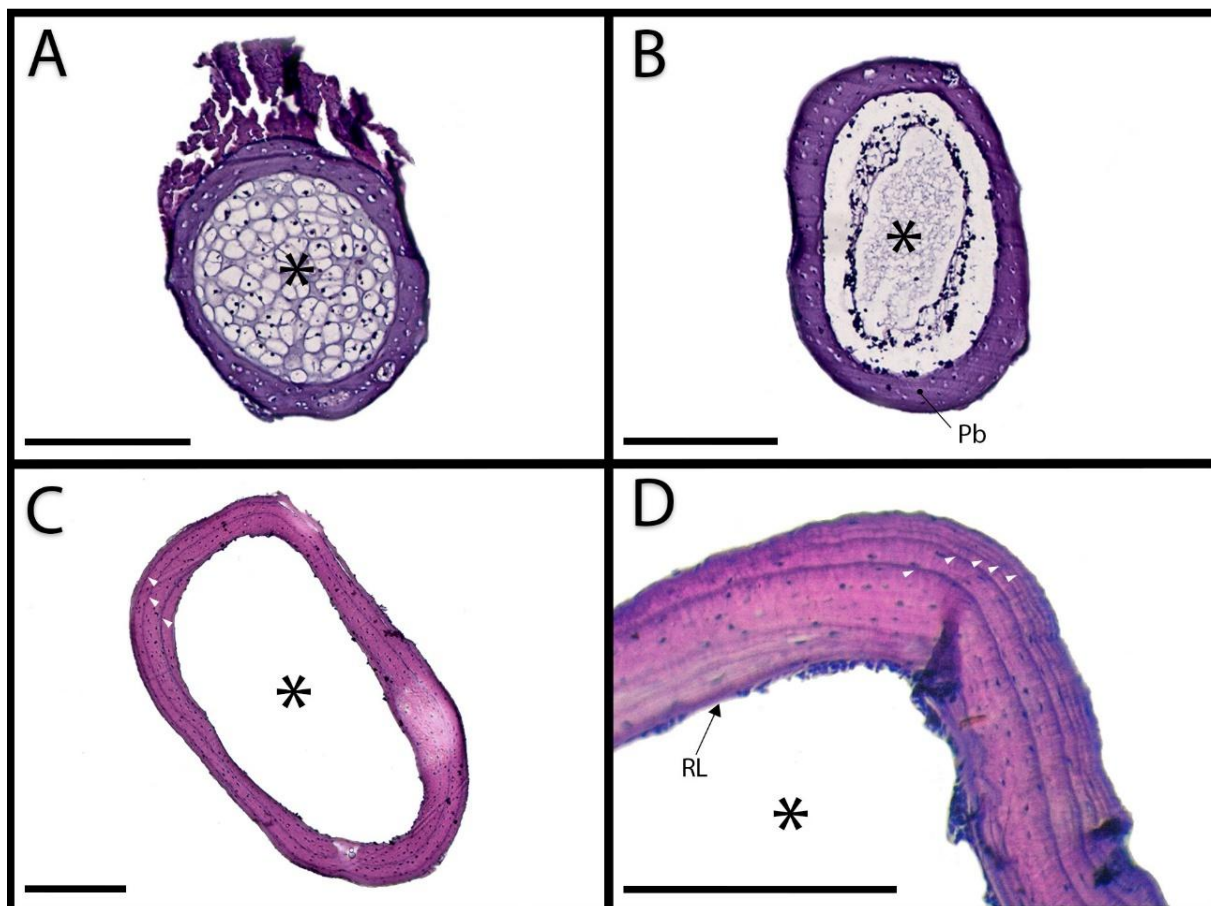


Figura 2: Exemplos de cortes transversais da diáfise do fêmur de *Proceratophrys goyana*. (A) Imago sem a presença de LAGs e com cartilagem (CRC= 12,38 mm). (B) Fêmea de 0 anos sem linhas de crescimento (CRC= 17,79 mm). (C) Macho de três anos com reabsorção parcial da primeira LAG (CRC= 43,9 mm). (D) Corte ampliado de um macho com cinco LAGs visíveis e duas completamente reabsorvidas (CRC= 45,32 mm). Setas brancas indicam linhas de suspensão do crescimento (LAGs). * = cavidade medular; Pb= osso periosteal; RL= Linha de reabsorção. Barra de escala = 200 μ m.

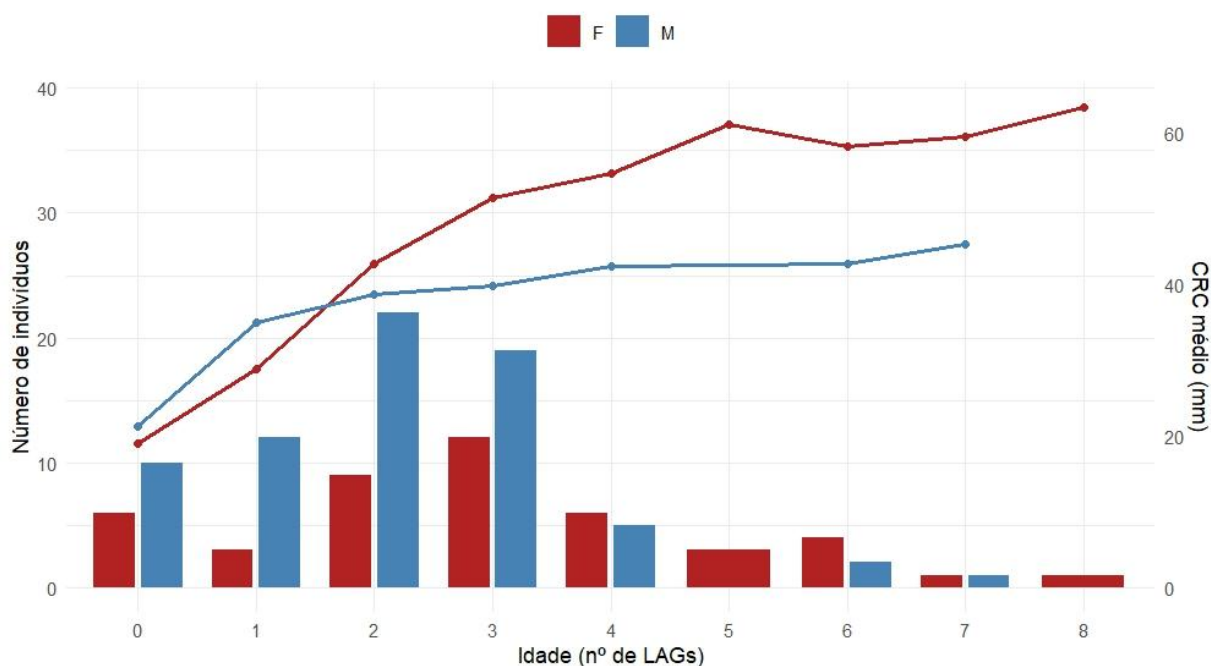


Figura 3: Distribuição etária e de tamanho corporal (CRC) da população de *Proceratophrys goyana*. F= fêmeas; M= machos. As barras indicam número de indivíduos e as linhas refletem o CRC médio.

As fêmeas apresentaram maior longevidade, e atingiram a maturidade em idade mais avançada que os machos. Machos e fêmeas apresentam distribuições etárias diferentes ($U = 1160,5$; $p < 0,05$) (Tabela 4), indicando que fêmeas são, em geral, mais velhas que os machos, um padrão também observado pelas medianas de idade de cada sexo (Tabela 4). Além disso, na maturidade as fêmeas eram maiores que os machos ($U = 0$; $p < 0,01$). Apesar dessas diferenças, a expectativa de vida reprodutiva potencial foi semelhante entre os sexos (6 anos) (Tabela 4).

Tabela 4: Parâmetros da história de vida sexo-específicos de *Proceratophrys goyana*. EVRP= expectativa de vida reprodutiva potencial; n= número de indivíduos. Os valores de tamanho na maturidade estão em milímetros (mm) e expressos como média \pm desvio padrão.

Parâmetros	Fêmeas	Machos
n	45	71
Mediana	3	2
Idade maturidade	2	1

Longevidade	8	7
EVRP	6	6
Tamanho maturidade	54,99 \pm 1,88	33,58 \pm 3,51

A correlação entre tamanho corporal (CRC) e massa foi positiva e alta ($r = 0,89$; $p < 0,001$), indicando forte colinearidade entre essas variáveis. A fim de evitar redundância estatística, a massa corporal não foi incluída nas análises subsequentes.

A correlação de Pearson indicou relação positiva e significativa entre idade e o tamanho em ambos os sexos. Nas fêmeas a correlação foi mais forte ($r = 0,85$; $p < 0,001$) do que nos machos ($r = 0,713$; $p < 0,001$).

O modelo de regressão linear sem interação ($crc \sim lag + sexo$) indicou que o tamanho entre machos e fêmeas difere para a mesma classe de idade, indicando dimorfismo sexual no tamanho ($F = 119,6$; R^2 ajustado = $0,67$; $p < 0,01$). O modelo de regressão linear com interação ($crc \sim lag * sexo$) revelou diferenças no padrão de crescimento entre os sexos. A inclinação da reta, que indica o aumento do CRC para cada unidade de idade, foi maior nas fêmeas (slope = $6,15$ mm por LAG) em comparação aos machos (slope = $3,68$ mm por LAG), indicando que o aumento de tamanho por classe de idade difere entre os sexos ($F = 91,56$; R^2 ajustado = $0,70$; $p < 0,001$) (Figura 4).

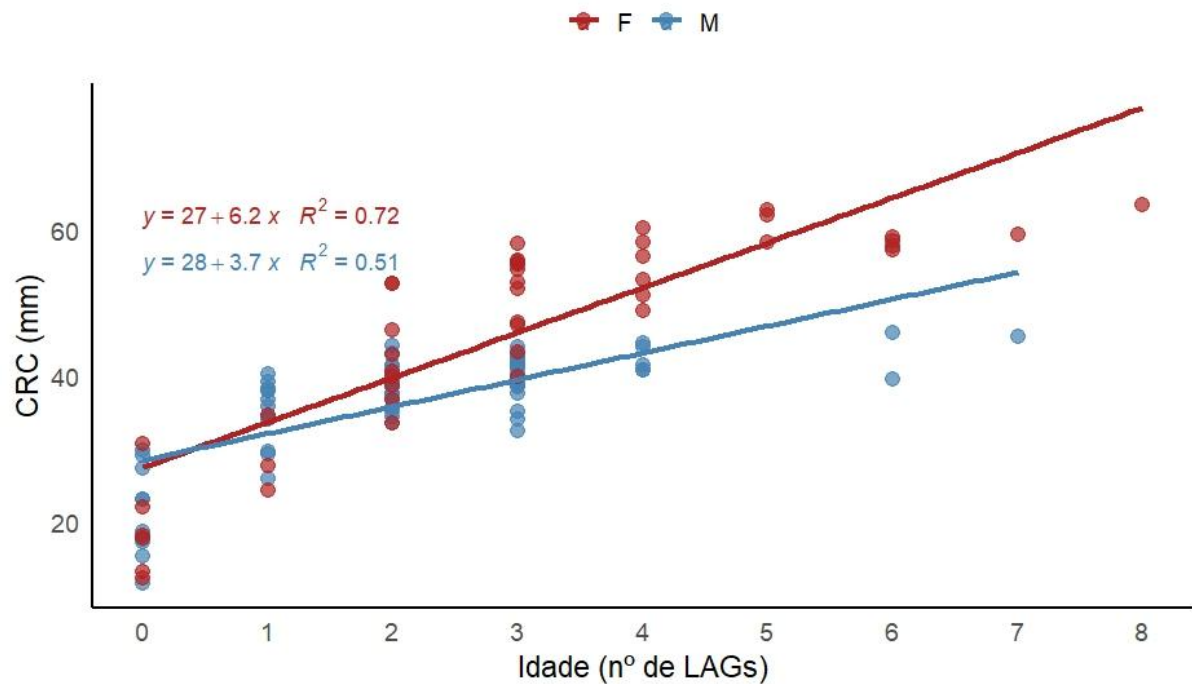


Figura 4: Modelo de regressão linear descrevendo a associação entre tamanho corporal (CRC) e idade. F= fêmeas; M= machos

O modelo de crescimento de von Bertalanffy indica que os machos apresentam a taxa de crescimento mais alta ($k = 1,03$; $p < 0,001$), crescendo mais rapidamente em estágios iniciais, porém atingindo menor tamanho assintótico ($S_{max} = 41,41$; $p < 0,001$). Já as fêmeas apresentam taxa de crescimento mais lenta ($k = 0,38$; $p < 0,001$), mas alcançam maior tamanho assintótico ($S_{max} = 65,16$; $p < 0,001$) (Figura 5).

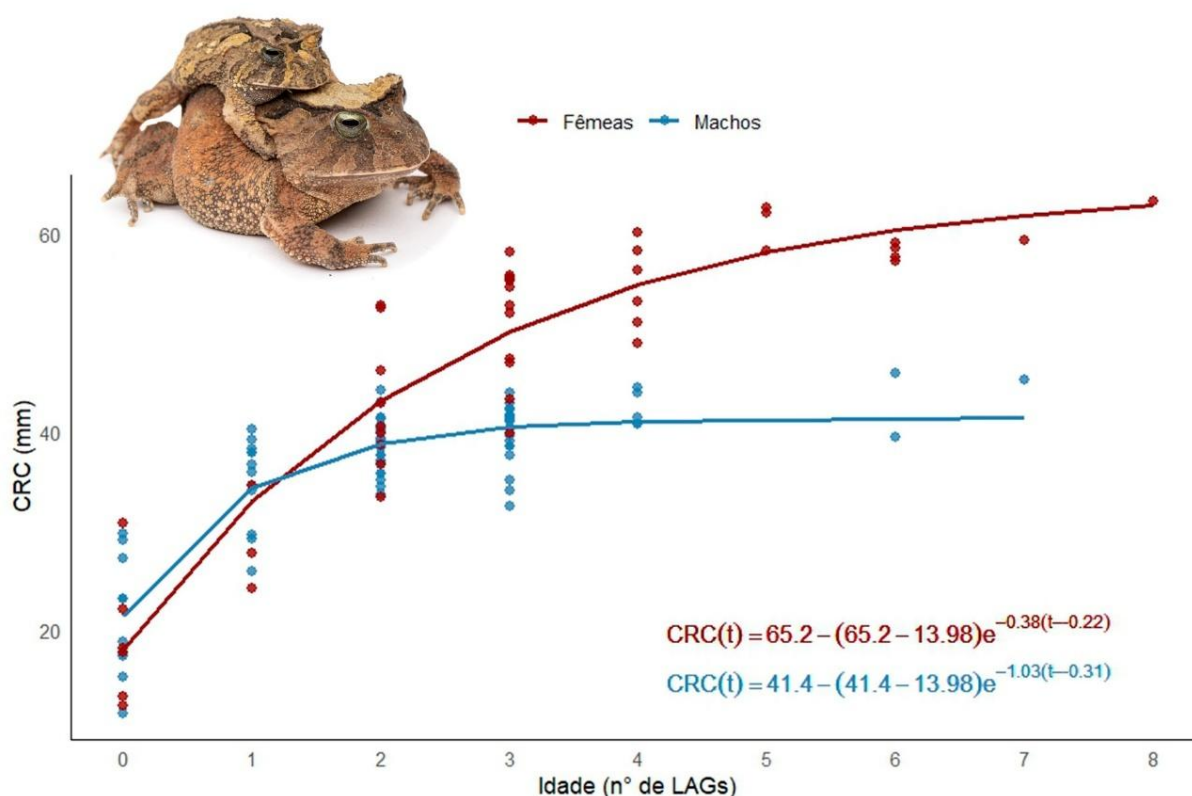


Figura 5: Relação entre tamanho corporal (CRC) e idade em machos e fêmeas. A linha representa o modelo de crescimento de von Bertalanffy.

Ontogenia gonadal

As gônadas femininas de *Proceratophrys goyana* são compostas por ovários pareados, multilobados, cercados por uma túnica albugínea que envolve os ovócitos em diferentes estágios de maturação (Figura 6). As fêmeas imaturas apresentaram ovócitos pré-vitelogênicos, de coloração esbranquiçada a translúcida, com presença de corpos de gordura (Figura 6A-C). Além disso os ovidutos são convolutos, finos e pequenos, pouco desenvolvidos (Figura 6B). Enquanto isso, as fêmeas maduras apresentaram ovócitos vitelogênicos e pós-vitelogênicos de coloração escura ocupando grande parte da cavidade abdominal (Figura 6D-F). Além de apresentarem ovidutos convolutos, de maior calibre e comprimento, bem desenvolvidos (Figura 6D).

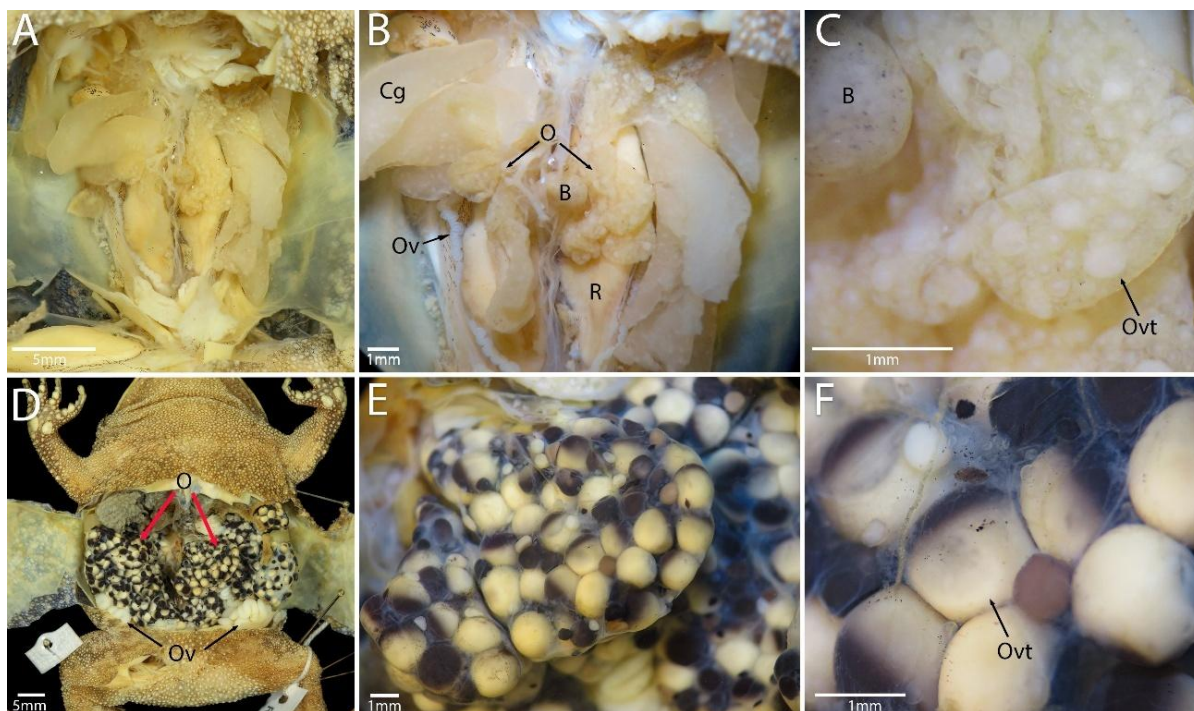


Figura 6: Ontogenia gonadal morfológica das fêmeas de *Proceratophrys goyana*. (A-C) Fêmea juvenil (CRC= 43,26 mm), sendo (B) detalhe mostrando ovários e estruturas associadas; (C) ampliação do ovário evidenciando ovócitos imaturos. (D-E) Fêmea adulta (CRC= 62,7 mm), sendo (D) massa de ovos ocupando grande parte da cavidade abdominal; (E) ovário com ovócitos circundados pela túnica albugínea; (F): detalhe de ovócito maduro. B = baço; Cg = corpos de gordura; O = ovário; Ov = oviduto; Ovt = ovócito; R = Rim.

As gônadas dos machos são compostas por um par de testículos esbranquiçados. Na morfologia, os testículos imaturos apresentam corpos de gordura, sendo possível diferenciar a parte anterior da parte posterior, essa sendo mais fina e fusiforme (Figura 7A). Os testículos maduros apresentaram formato ovoide, túbulos seminíferos discerníveis, ausência de células pigmentadas na superfície e circundados por fina camada de tecido conjuntivo (túnica albugínea) (Figura 7C).

Na histologia é possível visualizar diferenças entre testículos maduros e imaturos. Nos testículos imaturos os túbulos seminíferos não estão completamente formados. Além disso, há presença de espermatogônias e ausência de espermatozoides livres (Figura 7B). Os machos maduros apresentam túbulos seminíferos compostos por vários cistos de células germinativas em diferentes estágios de diferenciação (Figura 7D). Dentre as

células são encontradas espermátides, espermatócitos e espermatozoides livres no lúmen do túbulo, caracterizando espermatogênese contínua.

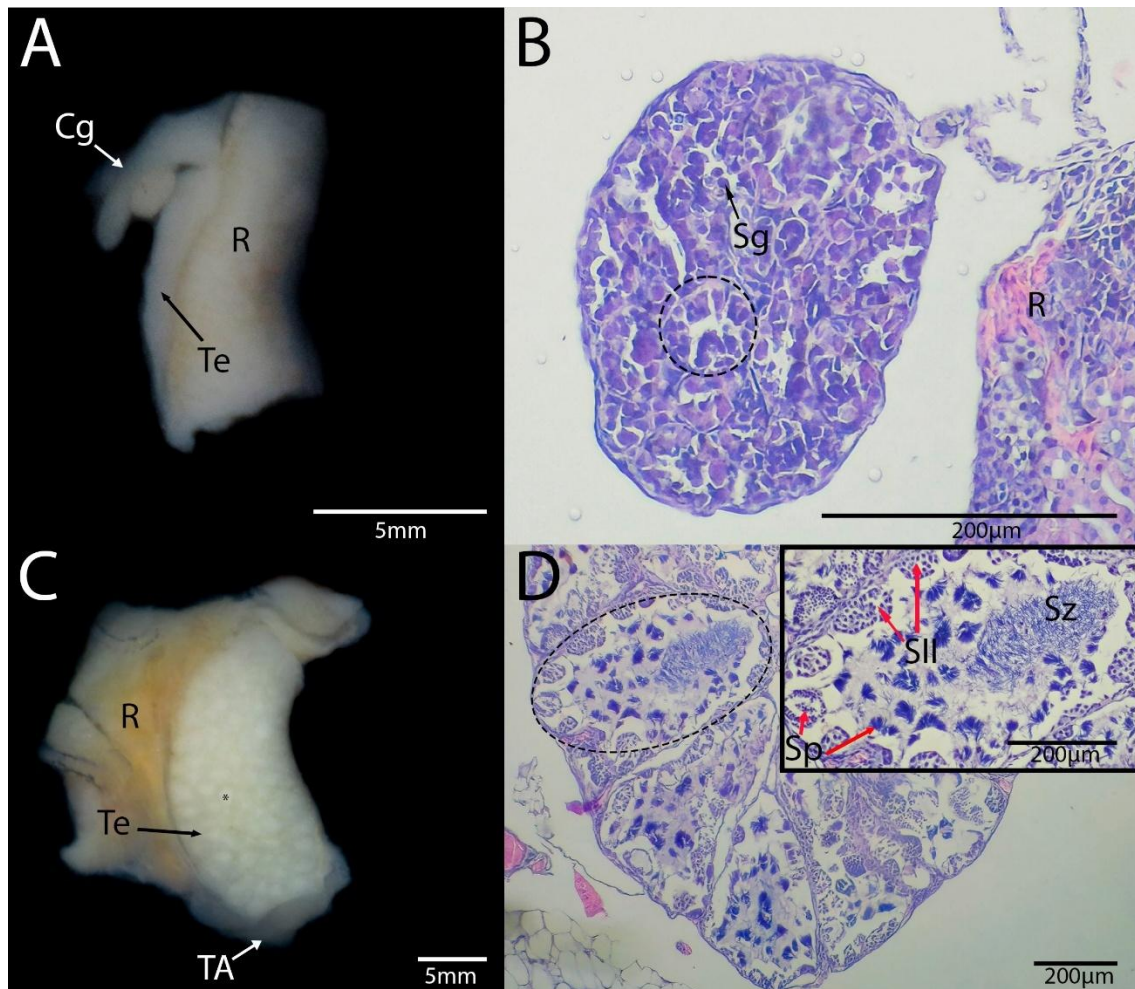


Figura 7: Ontogenia gonadal morfológica (A, C) e histológica (B, D) dos machos de *Proceratophrys goyana*. (A-B) Macho juvenil (CRC= 17,29 mm): (A) aspecto morfológico geral; (B) corte histológico do testículo juvenil com túbulos seminíferos iniciando sua formação. (C-D) Macho adulto (CRC= 35,74 mm), sendo (C) morfologia externa; (D) testículo maduro com túbulos seminíferos desenvolvidos e imagem aproximada mostrando células germinativas. *= túbulo seminífero; Cg= corpos de gordura; R=: rim; SII: espermatócito secundário; Sg: espermatogônia; Sp: espermátide; Sz: espermatozoides; TA= Túnica albugínea; Te: Testículo. Linha pontilhada delimita túbulo seminífero.

Maturidade e dimorfismo sexual

No total, 59 (83%) machos e 22 (49%) fêmeas foram classificados como maduros (Tabela 3). O Teste t indicou dimorfismo sexual no tamanho corporal ($t = 20,96$; $p < 0,001$), com fêmeas ($57,21 \pm 3,2$) maiores que machos ($39,11 \pm 3,54$).

A regressão logística penalizada indicou que tanto o tamanho corporal (CRC) quanto o número de LAGs influenciam significativamente a maturidade sexual, porém a colinearidade entre CRC e LAG inviabilizou a inclusão de ambas no mesmo modelo. Em fêmeas, o CRC foi forte preditor de maturidade ($n = 45$; coeficiente = 0,77; $p = 0,024$), com a transição de baixa para alta probabilidade de maturidade ocorrendo entre 50 e 55 mm (Figura 8A), sugerindo que fêmeas imaturas tendem a ter tamanhos corporais abaixo de 45mm, enquanto aquelas maiores de 55 mm estão, em sua maioria, maduras. O número de LAGs também foi significativo em fêmeas ($n = 45$; coeficiente = 1,44; $p = 0,002$), com um padrão mais gradual, indicando que a maturidade ocorre entre 2 e 6 anos (Figura 8B).

Para os machos, o número de LAGs foi o melhor preditor da maturidade ($n = 71$; coeficiente = 4,45; $p = 0,003$), com transição de imaturidade para maturidade entre 0 e 2 anos (Figura 8C), quando 83,3% dos indivíduos de um ano estão maduros. Isso indica que os machos atingem a maturidade antes que as fêmeas (Tabela 3). O CRC também foi explicativo para a maturidade ($n = 71$; coeficiente = 0,52; $p = 0,001$), a qual tende a ocorrer entre 30 e 40 mm (Figura 8D).

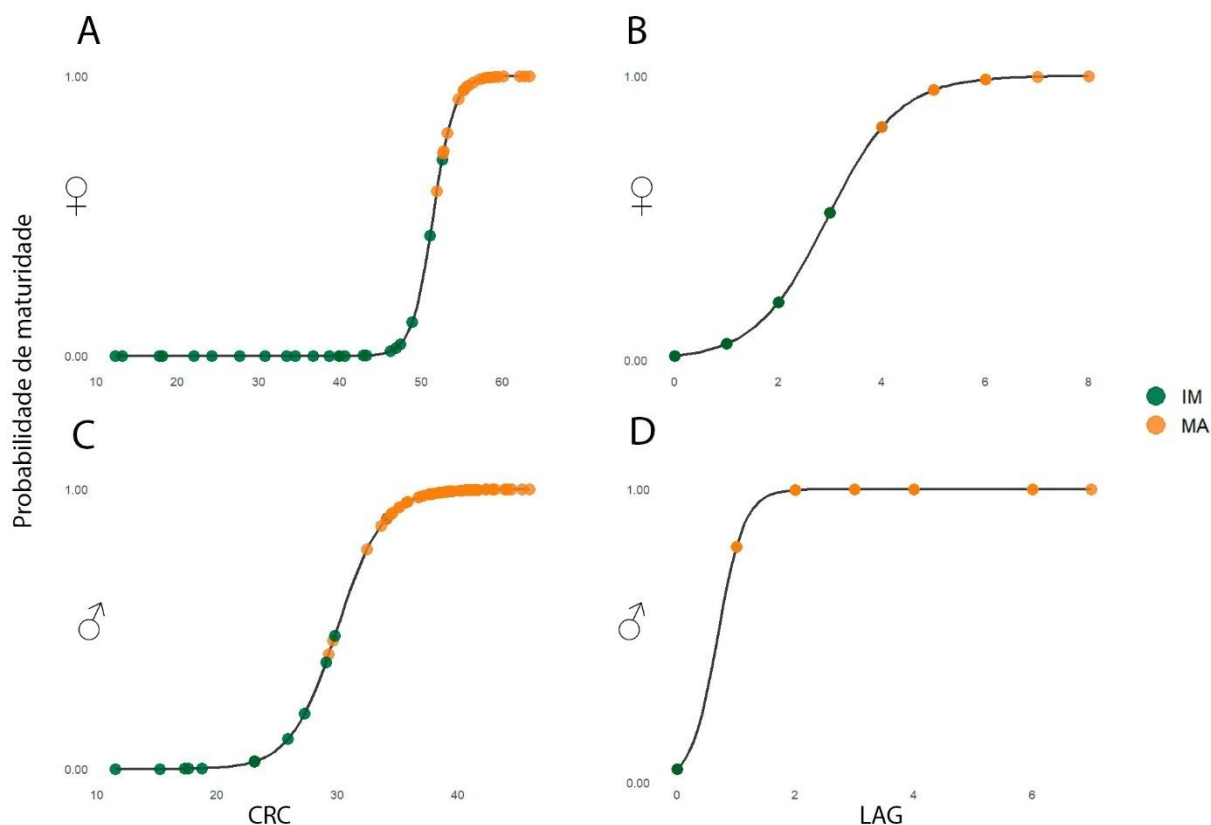


Figura 8: Regressão logística penalizada mostrando a relação entre tamanho corporal (CRC) (A, C) e Idade (LAG) (B, D) e a probabilidade de maturidade sexual em *Proceratophrys goyana*. (A, B) Fêmeas. (C, D) Machos. IM= imaturo; MA= maduro.

Discussão

Viabilidade e limitações da osteocronologia em *Proceratophrys goyana*

A osteocronologia demonstrou ser uma metodologia viável para estimar a idade de *Proceratophrys goyana*, sendo este o primeiro estudo para o gênero e o quinto para a família Odontophrynidae (Quiroga et al., 2015; Otero et al., 2021; Brum et al., 2022; Piñero et al., 2023), contribuindo para o preenchimento de lacunas no conhecimento da história de vida de anuros neotropicais.

Autores têm destacado vieses nos estudos de osteocronologia, tanto do ponto de vista taxonômico quanto geográfico. Brum et al. (2024) apontam que as publicações sobre longevidade em anuros da América do Sul se concentram em espécies de médio a grande porte, com ampla distribuição geográfica, baixo risco de extinção e pertencentes às famílias Bufonidae e Leptodactylidae. Complementarmente, Peng et al. (2021) destacam o desequilíbrio no esforço de

pesquisa entre regiões temperadas e tropicais, evidenciando que há escassez de estudos sobre história de vida justamente nas áreas com maior diversidade de anuros. Essa lacuna está associada a dificuldades de acesso a habitats tropicais, desigualdades socioeconômicas no financiamento científico e à baixa disponibilidade de estudos da história natural (Peng et al., 2021). Nesse contexto, *P. goyana* é uma espécie com distribuição restrita e pertencente a uma linhagem pouco representada na literatura, reforçando a relevância do presente estudo.

Foi possível estimar a idade dos 116 indivíduos, mesmo considerando as limitações impostas por ambientes tropicais. Embora se presuma que a sazonalidade nos ambientes tropicais seja menos acentuada do que em zonas temperadas, estudos prévios indicam que a precipitação pode atuar como regulador externo para a deposição anual de LAGs (Khonsue et al., 2000; Kopp et al., 2010; Guarino et al., 2014; Sinsch & Dehling, 2017). Em *Leptodactylus fallax*, por exemplo, Guarino et al. (2014) observam a formação de LAGs durante a estação seca, quando há redução a temperatura e da disponibilidade alimentar. De modo complementar, espécies africanas do gênero *Hyperolius*, como *H. viridiflavus*, *H. marmoratus* e *H. castaneus*, também apresentam interrupções sazonais no crescimento, evidenciando um ritmo circannual intrínseco que responde às variações ambientais, principalmente à precipitação (Sinsch & Dehling, 2017). Em *P. goyana*, a sazonalidade do Cerrado parece exercer papel semelhante, induzindo à formação anual de LAGs.

Apesar da viabilidade da osteocronologia em *Proceratophrys goyana*, a reabsorção óssea foi bastante pronunciada, com 82,2% das fêmeas e 60,6% dos machos apresentando evidências de remoção parcial ou completa de LAGs. Isso indica que, sem correções adequadas, a osteocronologia poderia subestimar consideravelmente a longevidade dos indivíduos, especialmente entre as fêmeas mais velhas. Para contornar esse viés, foi desenvolvido um protocolo baseado na comparação entre o perímetro da linha de reabsorção (RL) e perímetros máximos de LAGs definidos por intervalos de referência, adaptando metodologias previamente propostas por Hemelaar (1985), Kumbar & Pancharatna (2001) e Santos (2016). A separação entre os sexos a partir da LAG2, conforme sugerido originalmente por Hemelaar (1985), foi aplicada nesse

estudo devido às diferenças entre machos e fêmeas, o que garantiu maior acurácia na inferência de idade.

A literatura aponta a reabsorção como um dos principais vieses à precisão da osteocronologia, especialmente nos primeiros anos de vida, quando ocorre maior remodelação óssea. Além disso, a taxa de reabsorção tende a diminuir após os indivíduos atingirem a maturidade sexual (Smirina 1972, 1986; Hemelaar, 1985). No entanto, foi observado que em *P. goyana*, especialmente nas fêmeas, a reabsorção pode continuar de forma relevante mesmo após a maturidade. Esse padrão pode estar relacionado ao fato de que, enquanto os machos apresentam uma desaceleração e estabilização no crescimento após a maturação, as fêmeas mantêm o crescimento de forma mais contínua, favorecendo a manutenção da remodelação óssea. Essa hipótese corrobora a maior intensidade e previsibilidade da reabsorção em fêmeas, com até quatro LAGs reabsorvidas. Por outro lado, nos machos esse número não excedeu três, em concordância com os achados de Smirina (1972) para *Rana temporaria*.

Hemelaar (1985) relatou reabsorção completa da LAG1 em até 76% das fêmeas e 43% dos machos de *Bufo bufo*, enquanto Miaud et al. (1999) documentaram reabsorção em 82% dos indivíduos de *Rana temporaria*. Esses dados reforçam que a reabsorção ocorre de forma semelhante em regiões temperadas e tropicais. Ainda assim, a elevada frequência de reabsorção observada em *Proceratophrys goyana* se destaca em comparação a outras espécies da família Odontophrynidae. Dos poucos estudos existentes, apenas Quiroga et al. (2015) mencionam a ocorrência de reabsorção em *Odontophrynus asper*, identificada em 16% dos indivíduos, nenhum dos quais com perda completa da LAG1. Esta discrepância pode estar relacionada a diferenças interespecíficas no ritmo de crescimento e na dinâmica de remodelação óssea, como já demonstrado por Sinsch & Dehling (2017), que encontraram ampla variação na taxa de reabsorção, oscilando de 0% a mais de 80% entre espécies do gênero *Hyperolius*.

Além disso, Hemelaar (1985) também identificou diferenças nas taxas de reabsorção entre populações de *Bufo bufo*, sugerindo que fatores ecológicos e fisiológicos influenciam na taxa de remodelamento ósseo. Assim, é possível que

a população estudada de *P. goyana* esteja exposta a pressões que favorecem maior taxa de reabsorção quando comparada a congêneres.

Ademais, os resultados indicam um padrão dimórfico na dinâmica de remodelação óssea. Nas fêmeas, a reabsorção ocorre de maneira mais previsível e intensificada com o avanço da idade, enquanto machos apresentam maior variabilidade individual. Essa diferença pode estar associada à maior longevidade e ao crescimento diferencial das fêmeas.

Ao permitir uma estimativa mais acurada da idade, sobretudo em fêmeas com intensa remodelação óssea, o protocolo apresentado amplia o potencial da aplicação da osteocronologia em espécies com marcado dimorfismo sexual e crescimento diferencial. Além disso, é importante ressaltar a seleção criteriosa de lâminas histológicas com menor incidência de artefatos, como dobras, expansões do tecido e colorações irregulares (Hemelaar, 1985; Cvetkovic et al., 2005; McCreary et al., 2008)

Por fim, ressaltamos a necessidade de abordagens cautelosas na aplicação da osteocronologia em anuros tropicais. Ignorar esse processo pode levar a subestimações da idade, impactando diretamente as inferências sobre os parâmetros da história de vida.

Parâmetros da história de vida

A população de *Proceratophrys goyana* estudada relevou distribuição etária ampla, com indivíduos variando de zero a oito anos. As fêmeas apresentaram maior longevidade (oito anos) em relação aos machos (sete anos) e mediana etária mais elevada (três vs. dois anos), indicando que as fêmeas tendem a viver mais. Entre os machos, 93% dos indivíduos tinham até três anos de idade, enquanto nas fêmeas 33% apresentaram quatro anos ou mais. Essa diferença na distribuição etária entre os sexos foi significativa e está de acordo com padrões já relatados para outras espécies de anuros, nas quais fêmeas apresentam maior longevidade (Echeverria & Filipello, 1990; Guarino et al., 1998; Sinsch et al., 2001; Kutrup et al. 2011; Guarino et al., 2014; Quiroga et al., 2015; Otero et al., 2017; Marangoni et al., 2019; Brum et al., 2022; Marangoni & Baldo, 2023; Piñero et al., 2023;)

A menor longevidade dos machos pode estar relacionada a diferenças comportamentais e ecológicas entre os sexos. Durante a estação reprodutiva os machos costumam vocalizar expostos e, muitas vezes, por períodos prolongados, o que aumenta a vulnerabilidade à predação (Shine, 1979; Tuttle & Ryan, 1981; Wells, 2007). Essa exposição diferencial tem sido apontada como uma das causas da menor sobrevivência dos machos em outras espécies, contribuindo para uma estrutura etária enviesada e menor longevidade de machos (Quiroga et al., 2015; Brum et al., 2022). Além disso, o sucesso reprodutivo de machos é geralmente determinado pelo acesso às fêmeas (Halliday & Verrel, 1988; Wells, 2007). Com isso, machos que amadurecem mais rápido e logo se somam à população reprodutiva podem ter maiores oportunidades de fecundação de óvulos que machos com maturidade mais tardia. Isso por que, de modo geral, indivíduos que amadurecem precocemente podem aumentar sua aptidão por iniciarem a reprodução mais cedo (Stearns, 1992). Por consequência, a maior longevidade das fêmeas pode ser interpretada como o reflexo de uma estratégia reprodutiva menos arriscada e de maior investimento em sobrevivência para acúmulo de energia destinado à produção de proles mais numerosas.

Apesar dessas diferenças, a expectativa de vida reprodutiva potencial (EVRP) foi semelhante entre os sexos, com ambos apresentando até seis anos de atividade reprodutiva após a maturação. Esse padrão sugere que, embora as fêmeas vivam mais, machos também podem contribuir igualmente para a reprodução ao longo do tempo. Essa contribuição dos machos pode ser favorecida por estratégias reprodutivas alternativas, como a poliandria observada nessa mesma população de *P. goyana* por Carvalho et al. (2020). Nessa estratégia, fêmeas são amplexadas por mais de um macho, o que permite que indivíduos do sexo masculino, inclusive de menor porte, aumentem sua chance de sucesso reprodutivo mesmo fora da competição direta por fêmeas (Lodé et al., 2005; Carvalho et al., 2020). Essa plasticidade comportamental ajuda a compensar o custo de uma vida mais curta e arriscada nos sítios de reprodução.

A idade mínima de maturidade sexual foi estimada em um ano para machos e dois anos para fêmeas, sendo consistente com padrões descritos em

anuros (Guarino et al., 1998; Liao & Lu, 2010; Sinsch & Dehling, 2017). Isso revela uma tendência a que os machos se reproduzam precocemente, dos oito indivíduos com um ano, seis (75%) estavam maduros. Já entre as fêmeas, a idade de maturidade observada (dois anos) se baseia em um único indivíduo com 52,72 mm de comprimento rostro-cloacal (CRC).

A correlação entre idade (número de LAGs) e tamanho (CRC) foi positiva e significativa para ambos os sexos, sendo mais forte nas fêmeas do que nos machos. Esse resultado está de acordo com o padrão amplamente documentado em anuros, onde o crescimento corporal tende a ser progressivo ao longo da vida, principalmente em espécies com crescimento indeterminado (Stearns, 1990; Otero et al., 2017). A correlação mais forte nas fêmeas provavelmente reflete a exigência de um tamanho corporal mínimo para a produção de ovócitos, processo que pode prolongar o crescimento mesmo após a maturação sexual (Shine, 1979; Wells, 2007; Han & Fu, 2013; Gustafson et al., 2015; Otero et al., 2017).

Os padrões observados em *Proceratophrys goyana* são comparáveis aos registrado para outras espécies da família Odontophrynidae, como *Odontophrynus americanus*, *O. asper* e *O. cordobae*, que apresentam idade de maturidade entre um e dois anos, a longevidade variando de três a dez anos e a expectativa de vida reprodutiva potencial de um a nove anos (Quiroga et al., 2015; Otero et al., 2021; Brum et al., 2022; Piñero et al., 2023). No entanto, é importante ressaltar que esses parâmetros não são fixos a nível de espécie ou gênero, podendo variar entre populações (Morrison & Hero, 2003; Leskovar et al., 2006; Sinsch et al., 2007; Kutrup et al., 2011; Yetman et al., 2012). Por exemplo, diferentes populações de *O. asper* apresentaram variações em longevidade (de cinco a dez anos), idade de maturidade (de um a dois anos) e EVRP (de quatro a nove anos) (Otero et al., 2021; Brum et al., 2022; Piñero et al., 2023). Essas diferenças provavelmente refletem a influência de fatores externos, como grau de urbanização, latitude, altitude e qualidade do habitat (Morrison & Hero, 2003; Leskovar et al., 2006; Sinsch et al., 2007; Kutrup et al., 2011; Yetman et al., 2012).

Assim, embora *Proceratophrys goyana* compartilhe parâmetros semelhantes com seus congêneres os valores observados reforçam a

importância de abordagens populacionais na compreensão da história de vida de anuros. Generalizações podem mascarar a plasticidade dos indivíduos frente a pressões ecológicas específicas enfrentadas por diferentes populações.

Ontogenia gonadal

A análise histológica e morfológica das gônadas de *Proceratophrys goyana* permitiu distinguir os indivíduos maduros e imaturos de ambos os sexos. Nas fêmeas, a maturidade foi caracterizada pela presença de ovócitos vitelogênicos e pós-vitelogênicos, além do desenvolvimento dos ovidutos, mais espessos e convolutos. Já nos machos, a maturação foi evidenciada pela presença de túbulos seminíferos organizados, contendo espermatozoides livres no lúmen, bem como por alterações na morfologia externa dos testículos, que passaram a apresentar formato ovóide.

Esses padrões são compatíveis com o que tem sido descrito para outros anuros, inclusive dentro da família Odontophrynidae (Kumbar & Pancharatna, 2001; Fabrezi et al., 2010; Carezzano et al., 2013; Goldberg, 2015; Quiroga et al., 2018; Brum, 2019; Cheij et al., 2024 e.g., Ogielska & Kotusz, 2004; Quiroga et al., 2015). No presente estudo, a morfologia e a histologia gonadal foram fundamentais tanto para a sexagem dos indivíduos quanto para uma breve descrição das gônadas de *P. goyana*, cuja anatomia reprodutiva era até então desconhecida. Esses resultados podem ser complementados com estudos futuros sobre o ciclo gametogênico, sazonalidade reprodutiva, descrição completa e diferenciação gonadal para a família Odontophrynidae como um todo.

Dimorfismo sexual, crescimento e maturidade

Como visto anteriormente fêmeas e machos dessa população diferiram em taxas de reabsorção de LAGs e nos parâmetros da história de vida. Os resultados indicaram que, entre indivíduos maduros, as fêmeas são maiores que os machos. Esse padrão, enviesado para fêmeas, é amplamente documentado

em anuros e corresponde ao tipo mais comum de dimorfismo sexual no tamanho corporal (SSD) para o grupo (Shine, 1979).

Uma explicação simples para o dimorfismo sexual poderia ser basicamente por diferenças na idade, com fêmeas vivendo mais e, por isso, atingindo tamanhos maiores (Monnet & Cherry 2002). No entanto, as fêmeas de *Proceratophrys goyana* na nossa amostra foram sempre maiores, independentemente da idade. Essa diferença sugere que o SSD não se deve apenas à diferença de longevidade, mas também as trajetórias de crescimento distintas entre os sexos.

O crescimento corporal é fator chave na determinação do tamanho final, sendo modulado principalmente pela idade de maturação (Halliday & Verrell, 1988; Sinsch et al., 2010). Como o crescimento tende a desacelerar após a maturidade, a diferença no tempo de maturação entre os sexos influencia diretamente o dimorfismo (Halliday & Verrell, 1988; Sinsch et al., 2010; Liao & Lu, 2010; Zornosa-Torres & Hoyos, 2016). Essa relação foi reforçada pelos resultados obtidos, que indicaram padrões contrastantes de crescimento e maturação entre machos e fêmeas de *Proceratophrys goyana*.

O modelo de crescimento de von Bertalanffy indicou que os machos apresentam taxa de crescimento inicial mais elevada, crescendo mais rapidamente nos primeiros anos, mas atingindo menor tamanho assintótico (Figura 5). A curva de crescimento dos machos mostra estabilização precoce, a partir de um ano, quando mais de 70% estão sexualmente maduros. Nesse momento, a taxa de crescimento reduz e estabiliza por volta dos dois anos, quando todos os machos já estão maduros. Esse padrão sugere que o crescimento dos machos estabiliza logo após a maturidade, como já visto em outros anuros (Liao & Lu, 2010; Bionda et al., 2015; Baraquet et al., 2018). Corroborando esse resultado, tanto o CRC quanto o número de LAGs explicam a maturidade sexual, sendo a idade o preditor mais forte da maturidade em machos.

A maturação precoce em machos pode refletir pressões reprodutivas específicas. Nos anuros, os machos geralmente maximizam seu sucesso reprodutivo através de múltiplas oportunidades de amplexo (Wells, 2007). No

entanto, ao vocalizarem em busca de novos eventos reprodutivos denunciam sua localização, se tornam mais expostos à predação e mortalidade (Shine, 1979; Wells, 2007). Esse padrão não é diferente entre os machos de *Proceratophrys goyana*. Nesse contexto, a seleção poderia favorecer machos que amadurecem precocemente e alocam recursos para a reprodução em vez de prolongar o crescimento.

Enquanto isso, as fêmeas crescem mais lentamente, mas atingem maior tamanho assintótico (Figura 5). A curva de crescimento das fêmeas não estabiliza claramente, apresentando padrão contínuo de crescimento, embora com menor inclinação após dois a três anos. Padrões semelhantes de crescimento foram observados em *Boana cordobae* e *Boreorana sylvaticus*, espécies nas quais as fêmeas continuaram crescendo após a maturidade, atingindo tamanhos corporais maiores por meio de crescimento prolongado e diferencial (Gustafson et al., 2015; Otero et al., 2017). Com isso, fêmeas incrementam mais seu tamanho anualmente que os machos, indicando uma estratégia de investimento energético distinta.

A maturação sexual das fêmeas também apresentou padrão diferente dos machos. Embora CRC e LAG tenham sido significativas na predição da maturidade, a relação com o tamanho é mais forte. A transição de imaturidade para maturidade ocorre entre 50 e 55 mm de CRC. Quase todas as fêmeas estão maduras a partir de três anos (Tabela 3). A menor fêmea madura tinha 51,9 mm e três anos de idade, e foi registrada apenas uma fêmea madura com dois anos, apresentando CRC de 52,72 mm. Em contraste, uma fêmea de 48 mm com quatro anos de idade ainda era imatura, reforçando que o limiar mínimo de tamanho corporal é um fator crítico para o início da maturação gonadal. Esses resultados sugerem que, nas fêmeas, a maturidade sexual é desencadeada principalmente pelo alcance de um tamanho corporal mínimo, mais do que pela idade cronológica. No entanto, como CRC e LAG são variáveis colineares, é natural que fêmeas maiores também apresentem idades mais avançadas.

Esse padrão é compatível com a hipótese de que fêmeas maiores maximizam a fecundidade, pois o tamanho do ovo e da ninhada estão correlacionados positivamente com o tamanho corporal (Shine, 1979; Wells, 2007; Han & Fu, 2013). Assim, a seleção natural favoreceria fêmeas que

continuam a crescer mesmo após atingir a maturidade sexual, acumulando reservas energéticas para reprodução, ampliando o tamanho de sua ninhada e maximizando o sucesso reprodutivo (Tejedo, 1992; Bionda et al., 2011; Liedtke et al., 2014).

A associação entre crescimento contínuo e maturação tardia nas fêmeas também pode estar relacionada à maior intensidade de reabsorção óssea observada nesse sexo. Como a reabsorção está relacionada à remodelação óssea, é possível que a manutenção do crescimento após a maturidade possa resultar em maior perda de LAGs entre fêmeas mais velhas. Essa é uma hipótese que pode ser testada em trabalhos futuros.

Crescimento rápido e estabilização precoce nos machos e crescimento mais lento e prolongado nas fêmeas é um padrão que já foi documentado em outras espécies de anuros, e pode refletir pressões seletivas distintas entre os sexos (Liao & Lu, 2010; Bionda et al., 2015; Gustafson et al., 2015; Otero et al., 2017; Baraquet et al., 2018). No gênero *Proceratophrys*, o padrão de dimorfismo sexual ainda é pouco explorado em termos de crescimento, maturidade e idade. Entretanto, fêmeas tendem a serem maiores que machos em espécies do gênero (e.g. *P. cururu*, *P. dibernadoi*, *P. ararype*) (Eterovick & Sazima, 1998; Brandão et al., 2013; Mângia et al., 2018), sugerindo que o padrão encontrado para *Proceratophrys goyana* pode ser comum no grupo. Tais dados reforçam a necessidade de integrar análises de crescimento, idade e maturidade em estudos de dimorfismo sexual para compreender os fatores evolutivos e ecológicos que moldam essas diferenças entre os sexos.

Conclusões

Os resultados deste estudo demonstraram que machos e fêmeas de *Proceratophrys goyana* apresentam diferentes estratégias em diversos aspectos da história de vida, incluindo longevidade, crescimento, maturidade sexual e reabsorção óssea. Essas estratégias foram evidentes em todas as análises realizadas, destacando a necessidade de considerar o efeito de diferentes pressões seletivas atuando em machos e fêmeas nos estudos que visam estimar idade, crescimento e outros parâmetros.

A interação entre fatores ontogenéticos, como a taxa e a duração do crescimento com fatores ecológicos, como diferenças na exposição à predação e fatores fisiológicos, como tamanho mínimo necessário para iniciar a reprodução, parecem compor a base evolutiva do dimorfismo observado na espécie. Fêmeas crescem por mais tempo e atingem tamanho maiores, o que pode maximizar o seu sucesso reprodutivo (Shine, 1979; Tejedo, 1992; Wells, 2007; Bionda et al., 2011; Han & Fu, 2013; Liedtke et al., 2014), enquanto machos investem em reprodução precoce, com diminuição do crescimento após a maturação. Esse padrão de crescimento diferencial entre os sexos já foi descrito como um dos principais mecanismos responsáveis pelo SSD em anuros (Halliday & Verrell, 1988; Sinsch et al., 2010; Liao & Lu, 2010; Zornosa-Torres & Hoyos, 2016) e foi corroborado neste estudo para uma espécie endêmica do Cerrado, pertencente a uma linhagem pouco estudada.

Além disso, a osteocronologia se mostrou eficaz na estimativa de idade em *P. goyana*, ainda que limitada pela alta taxa de reabsorção de LAGs, especialmente em fêmeas mais velhas. A determinação da dinâmica de reabsorção aplicada no presente estudo foi fundamental para evitar a subestimação da idade dos indivíduos. O protocolo de cálculo da reabsorção desenvolvido neste estudo pode ser utilizado como base para estudos futuros com anuros tropicais.

Por fim, a sazonalidade do Cerrado, com períodos definidos de seca e chuva, parece exercer papel central na delimitação das linhas de interrupção do crescimento (LAGs) observadas em *Proceratophrys goyana*. Esse padrão reforça o potencial da osteocronologia como ferramenta para estimar a idade de outras espécies do bioma, bem como de outros biomas tropicais. Ao ampliar o conhecimento sobre uma espécie endêmica e pouco estudada, este trabalho também reforça a importância de estudos de história de vida em regiões tropicais, sobretudo no Cerrado, que enfrenta acelerada perda de biodiversidade.

Referências bibliográficas

Abadie, S. (2015). *Conservação do sapinho-admirável-de-barriga-vermelha, Melanophryniscus admirabilis (Anura: Bufonidae): Estudo de ecologia*

populacional (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Arantes, Í. D. C., Vasconcellos, M. M., Boas, T. C., Veludo, L. B., & Colli, G. R. (2015). Sexual dimorphism, growth, and longevity of two toad species (Anura, Bufonidae) in a Neotropical savanna. *Copeia*, 103(2), 329–342.

Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2002). *Theory and practice of histological techniques*. Churchill Livingstone.

Baraquet, M., Otero, M. A., Valetti, J. A., Grenat, P. R., & Martino, A. L. (2018). Age, body size, and growth of *Boana cordobae* (Anura: Hylidae) along an elevational gradient in Argentina.

Begon, M., Harper, J. L., & Townsend, C. R. (1996). *Ecology: Individuals, populations and communities*. Blackwell Science Ltd.

Bionda, C. D. L., Kost, S., Salas, N. E., Lajmanovich, R. C., Sinsch, U., & Martino, A. L. (2015). Age structure, growth and longevity in the common toad, *Rhinella arenarum*, from Argentina.

Bionda, C. L., Lajmanovich, R. C., Salas, N. E., Martino, A. L., & Di Tada, I. E. (2011). Reproductive ecology of the common South American toad *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae): Reproductive effort, clutch size, fecundity, and mate selection. *Journal of Herpetology*, 45(2), 261–264.

Brandão, R. A., Caramaschi, U., Vaz-Silva, W., & Campos, L. A. (2013). Three new species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro 1920 from Brazilian Cerrado (Anura, Odontophrynidae). *Zootaxa*, 3750(4), 321–347. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3750.4.2>

Brum, A. J. C. (2019). *Ciclo reprodutivo, maturidade sexual e longevidade de Odontophrynus americanus* (Anura: Odontophrynidae) no Sul do Brasil (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Santa Maria.

Brum, A. J., Dos Santos, T. G., & Cechin, S. Z. (2024). Research on longevity and associated age data of South American anurans: Trends, gaps and recommendations. *Royal Society Open Science*, 11(9), 240973.

Brum, A. J. C., Loebens, L., Prado, C. P. A., & Cechin, S. Z. (2022). Reproductive cycle, sexual maturity and longevity of *Odontophrynus americanus* (Anura: Odontophrynidae) in South Brazil. *Acta Zoologica*, 103, 99–111.

Carezzano, F., Urquiza, S., Dorflinger, K., & Alonso, M. (2013). Morfohistologia testicular de *Odontophrynus americanus* (Dumeril & Bibron, 1841) (Odontophrynidae, Anura) de Argentina. *The Biologist*, 11(1), 119–129.

Carvalho, G., Oliveira Meneses, A. S. D., Queiroz, P. P. D., & Albuquerque Brandão, R. A. (2020). Multiple mating and oviposition behavior of *Proceratophrys goyana* (Anura: Odontophrynidae) in the Brazilian Cerrado. *Cuadernos de Herpetología*, 34.

Castanet, J. (2002). Amphibiens et reptiles non aviens: un matériel de choix en skelettochronologie. *Bulletin de la Société Herpétologique de France*, 21–40.

- Castanet, J., & Smirina, E. M. (1990). Introduction to the skeletochronological method in amphibians and reptiles. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie*, 11, 191–196.
- Castanet, J., Francillon-Vieillot, H., Meunier, F. J., & de Ricqlès, A. (1993). Bone and individual aging. In B. K. Hall (Ed.), *Bone growth* (Vol. 7, pp. 245–283). CRC Press.
- Cechin, S. Z., & Martins, M. (2000). Eficiência de armadilhas de queda (pitfall traps) em amostragens de anfíbios e répteis no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 17(3), 729–740.
- Cheij, E., Olea, G. B., Rodríguez, F., Céspedes, J., & Flores Quintana, C. (2024). Gametogenesis in *Rhinella bergi* (Anura: Bufonidae): Morphological and morphometric analysis. *Acta Zoologica*, 105(3), 317–330.
- Cvetković, D. D., Tomašević, N., Aleksić, I. D., & Crnobrnja-Isailović, J. M. (2005). Assessment of age and intersexual size differences in *Bufo bufo*. *Archives of Biological Sciences*, 57(2), 157–162.
- Duellman, W.E. (1970). *The hylid frogs of Middle America*. Monographs of the Museum of Natural History of the University of Kansas, Lawrence, 753 pp.
- Durham, L., & Bennett, G. W. (1963). Age, growth, and homing in the bullfrog. *The Journal of Wildlife Management*, 27(1), 107–123.
- Echeverria, D. D., & Filipello, A. M. (1990). Edad y crecimiento en *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *Cuadernos de Herpetología*, 5, 25–31.
- Eterovick, P. C., & Sazima, I. (1998). New species of *Proceratophrys* (Anura: Leptodactylidae) from southeastern Brazil. *Copeia*, 159–164.
- Fabrezi, M., Quinzio, S. I., & Goldberg, J. (2010). The ontogeny of *Pseudis platensis* (Anura, Hylidae): heterochrony and the effects of larval development on postmetamorphic life. *Journal of Morphology*, 271(4), 496–510.
- Gambale, P. G., Woitovicz-Cardoso, M., Vieira, R. R., Batista, V. G., Ramos, J., & Bastos, R. P. (2014). Composição e riqueza de anfíbios anuros em remanescentes de Cerrado do Brasil Central. *Iheringia. Série Zoologia*, 104, 50–58.
- Goldberg, J. (2015). Gonadal differentiation and development in the snouted treefrog, *Scinax fuscovarius* (Amphibia, Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology*, 49(3), 468–478.
- Guarino, F. M., & Erismis, U. C. (2008). An endemic frog from Turkey. *Italian Journal of Zoology*, 75, 237–242.
- Guarino, F. M., Andreone, F., & Angelini, F. (1998). Growth and longevity by skeletochronological analysis in *Mantidactylus microtypanum*, a rain-forest anuran from southern Madagascar. *Copeia*, 1998(1), 194–198.
- Guarino, F. M., Di Nocera, F., Pollaro, F., Galiero, G., Iaccarino, D., Iovino, D., Mezzasalma, M., Petraccioli, A., Odierna, G., & Maio, N. (2020). Skeletochronology, age at maturity and cause of mortality of loggerhead sea

turtles (*Caretta caretta*) stranded along the beaches of Campania (south-western Italy, western Mediterranean Sea). *Herpetozoa*, 33, 39–51.

Guarino, F. M., Garcia, G., & Andreone, F. (2014). Huge but moderately long-lived: age structure in the mountain chicken, *Leptodactylus fallax*, from Montserrat, West Indies. *The Herpetological Journal*, 24(3), 167–173.

Guarino, F. M., Lunardi, S., Carlomagno, M., & Mazzotti, S. (2003). A skeletochronological study of growth, longevity, and age at sexual maturity in a population of *Rana latastei* (Amphibia, Anura). *Journal of Biosciences*, 28, 775–782.

Gustafson, K. D., Newman, R. A., Pulis, E. E., & Cabarle, K. C. (2015). A skeletochronological assessment of age-parasitism relationships in wood frogs (*Lithobates sylvaticus*). *Journal of Herpetology*, 49(1), 122–130.

Halliday, T. R., & Verrell, P. A. (1988). Body size and age in amphibians and reptiles. *Journal of Herpetology*, 253–265.

Han, X., & Fu, J. (2013). Does life history shape sexual size dimorphism in anurans? A comparative analysis. *BMC Evolutionary Biology*, 13, Article 88.

Hemelaar, A. (1985). An improved method to estimate the number of year rings resorbed in phalanges of *Bufo bufo* (L.) and its application to populations from different latitudes and altitudes. *Amphibia-Reptilia*, 6(4), 323–341.

Heyer, R., Donnelly, M. A., Foster, M., & McDiarmid, R. (1994). *Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians*. Smithsonian Institution.

Khonsue, W., Matsui, M., & Misawa, Y. (2000). Age determination by skeletochronology of *Rana nigrovittata*, a frog from tropical forest of Thailand. *Zoological Science*, 17(2), 253–257.

Klink, C. A., & Machado, R. B. (2005). A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade*, 1(1), 147–155.

Kopp, K., Signorelli, L., & Bastos, R. P. (2010). Distribuição temporal e diversidade de modos reprodutivos de anfíbios anuros no Parque Nacional das Emas e entorno, estado de Goiás, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 100, 192–200.

Kosmidis, I., & Firth, D. (2021). Jeffreys-prior penalty, finiteness and shrinkage in binomial-response generalized linear models. *Biometrika*, 108(1), 71–82. <https://doi.org/10.1093/biomet/asaa052>

Kumbar, S. M., & Pancharatna, K. (2001). Determination of age, longevity and age at reproduction of the frog *Microhyla ornata* by skeletochronology. *Journal of Biosciences*, 26(2), 265.

Kutrup, B., Özdemir, N., Bülbül, U., & Çakır, E. (2011). A skeletochronological study of age, growth and longevity of *Rana macrocnemis* populations from four locations at different altitudes in Turkey. *Amphibia-Reptilia*, 32(1), 113–118.

- Leskovar, C., Oromi, N., Sanuy, D., & Sinsch, U. (2006). Demographic life history traits of reproductive natterjack toads (*Bufo calamita*) vary between northern and southern latitudes. *Amphibia-Reptilia*, 27(3), 365–375.
- Liao, W. B., & Lu, X. (2010). Age structure and body size of the Chuanxi tree frog *Hyla annectans chuanxiensis* from two different elevations in Sichuan (China). *Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology*, 248(4), 255–263.
- Liedtke, H. C., Müller, H., Hafner, J., Nagel, P., & Loader, S. P. (2014). Interspecific patterns for egg and clutch sizes of African Bufonidae (Amphibia: Anura). *Zoologischer Anzeiger – A Journal of Comparative Zoology*, 253(4), 309–315.
- Lodé, T., Holveck, M. J., & Lesbarrères, D. (2005). Asynchronous arrival pattern, operational sex ratio and occurrence of multiple paternities in a territorial breeding anuran, *Rana dalmatina*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 86(2), 191–200.
- Machado, L. A., & Assis, W. L. (2020). Caracterização do regime pluviométrico no entorno do Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros (GO). *Revista Brasileira de Climatologia*, 27, 702–725.
- Mângia, S., Koroiva, R., Nunes, P. M. S., Roberto, I. J., Ávila, R. W., Sant'Anna, A. C., Santana, D. J., & Garda, A. A. (2018). A new species of *Proceratophrys* (Amphibia: Anura: Odontophrynidae) from the Araripe plateau, Ceará state, northeastern Brazil. *Herpetologica*, 74(3), 255–268.
- Marangoni, F., & Baldo, J. D. (2023). Life-history traits of three syntopic species of the South American redbelly toads (Anura: Bufonidae: *Melanophryniscus*) from the Atlantic Forest of Argentina.
- Marangoni, F., Courtis, A., Piñeiro, J. M., Ingaramo, M. D. R., Cajade, R., & Stănescu, F. (2019). Contrasting life-histories in two syntopic amphibians of the *Leptodactylus fuscus* group (Heyer 1978). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91(3), e20180507.
- Marín-Moratalla, N., Jordana, X., & Köhler, M. (2013). Bone histology as an approach to providing data on certain key life history traits in mammals: Implications for conservation biology. *Mammalian Biology*, 78(6), 422–429.
- Martins, L. B., & Giaretta, A. A. (2013). Morphological and acoustic characterization of *Proceratophrys goyana* (Lissamphibia: Anura: Odontophrynidae), with the description of a sympatric and related new species. *Zootaxa*, 3750(4), 301–320.
- McCreary, B., Pearl, C. A., & Adams, M. J. (2008). A protocol for aging anurans using skeletochronology (No. 2008-1209). U.S. Geological Survey.
- Meneses, A. S. O., & Corrêa, B. A. A. P. (2020). Defensive behaviors in two *Proceratophrys* species (Anura: Odontophrynidae) from central Brazilian Cerrado. *Cuadernos de Herpetología*, 34.
- Miranda-Ribeiro, A. (1937). Espécies novas do gênero *Stombus* da série de apêndices oculares reduzidos. *O Campo*, 24.

- Miaud, C., Guyétant, R., & Elmberg, J. (1999). Variations in life-history traits in the common frog *Rana temporaria* (Amphibia: Anura): A literature review and new data from the French Alps. *Journal of Zoology*, 249(1), 61–73.
- Monnet, J. M., & Cherry, M. I. (2002). Sexual size dimorphism in anurans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 269(1507), 2301–2307.
- Monroe, M. J., & Alonzo, S. H. (2014). Sexual size dimorphism is not associated with the evolution of parental care in frogs. *Ecology and Evolution*, 4(20), 4001–4008.
- Morrison, C., & Hero, J. M. (2003). Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: A review. *Journal of Animal Ecology*, 72(2), 270–279.
- Nacarino-Meneses, C., Jordana, X., & Köhler, M. (2016). First approach to bone histology and skeletochronology of *Equus hemionus*. *Comptes Rendus Palevol*, 15(1–2), 267–277.
- Oda, F. H., Bastos, R. P., & Sá Lima, M. A. D. C. (2009). Taxocenose de anfíbios anuros no Cerrado do Alto Tocantins, Niquelândia, estado de Goiás: Diversidade, distribuição local e sazonalidade. *Biota Neotropica*, 9, 219–232.
- Ogielska, M., & Kotusz, A. (2004). Pattern and rate of ovary differentiation with reference to somatic development in anuran amphibians. *Journal of Morphology*, 259(1), 41–54.
- Olea, G., Cheij, E., Boccioni, A. P. C., Rodriguez, F., Céspedes, J., & Lombardo, D. (2021). Gametogenesis and reproductive dynamics of *Scinax acuminatus* (Anura: Hylidae): Morphological, histological and immunohistochemical analysis. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 93, e20190841.
- Otero, M. A., Baraquet, M., Pollo, F. E., Grenat, P. R., Sala, N., & Martino, A. (2017). Sexual size dimorphism in relation to age and growth in *Hypsiboas cordobae* (Anura: Hylidae) from Córdoba, Argentina. *[Dados do periódico faltando]*.
- Otero, M. A., Grenat, P. R., Bionda, C. L., Baraquet, M., Pollo, F. E., Salas, N. E., & Martino, A. L. (2021). Age and growth in an anuran hybrid zone: Fitness-related traits of the diploid/polyploid ground frog complex (*Odontophrynus*) from central Argentina. *Zoologischer Anzeiger*, 293, 257–262.
- Parreira, I., Passaglia, F. B., de Queiroz, P. P., De-Lima, A. K., & Brandão, R. A. (2025). Age structure and size variation in three closely related species of casque-headed frogs of the genus *Trachycephalus* (Hylidae: Lophyohylini). *Acta Zoologica*. [Aguardando volume/página].
- Patón, D., Cardona, L., & Gisbert, E. (1994). Comparative growth in relation with the age assessed by skeletochronology in two mullet fishes of genus *Liza*. *Animal Production*, 59(2), 303–307. <https://doi.org/10.1017/S0003356100007790>
- Peng, Z., Zhang, L., & Lu, X. (2022). Global gaps in age data based on skeletochronology for amphibians. *Integrative Zoology*, 17(5), 752–763.

Piñeiro, J. M., Cajade, R., & Marangoni, F. (2023). Body size, age and growth pattern of the most represented anurans in inselbergs of northeastern Argentina. *[Dados do periódico faltando]*.

Quiroga, L. B., Sanabria, E. A., & Marangoni, F. (2015). Sexual size dimorphism and age in *Odontophrynus cf. barrioi* (Anura: Odontophrynidae) from the Monte Desert, Argentina. *Journal of Herpetology*, 49(4), 627–632.

Quiroga, L., Sanabria, E., Jahn, G., & Fornés, M. (2018). Spermatogenic and testosterone cycles in a desert-adapted amphibian *Odontophrynus barrioi* from the Monte Desert, Argentina. *Journal of Herpetology*, 52(1), 12–18.

Rastogi, V., Puri, N., Arora, S., Kaur, G., Yadav, L., & Sharma, R. (2013). Artefacts: A diagnostic dilemma—a review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(10), 2408.

R Core Team. (2024). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>

Reading, C. J. (1991). The relationship between body length, age and sexual maturity in the common toad, *Bufo bufo*. *Ecography*, 14(4), 245–249.

Ribeiro, J. F., & Walter, B. M. T. (2008). As principais fitofisionomias do Bioma Cerrado. In S. M. Sano, S. P. Almeida, & J. F. Ribeiro (Eds.), *Cerrado: Ecologia e flora* (Vol. 1, pp. 151–212). Brasília: Embrapa Cerrados.

Rozenblut, B., & Ogielska, M. (2005). Development and growth of long bones in European water frogs (Amphibia: Anura: Ranidae), with remarks on age determination. *Journal of Morphology*, 265(3), 304–317.

Santoro, G. R. C. C., & Brandão, R. A. (2014). Reproductive modes, habitat use, and richness of anurans from Chapada dos Veadeiros, central Brazil. *North-Western Journal of Zoology*, 10(2), 300–309.

Santos, J. H. D. (2016). *Estimativa de idade e taxa de crescimento de Melanophryniscus admirabilis (Anura: Bufonidae) por meio da osteocronologia* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul].

Shine, R. (1979). Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia*, 1979(2), 297–306.

Shirose, L. J., Brooks, R. J., Barta, J. R., & Desser, S. S. (1993). Intersexual differences in growth, mortality, and size at maturity in bullfrogs in central Ontario. *Canadian Journal of Zoology*, 71(12), 2363–2369.

Sinsch, U. (2015). Life-history traits in amphibians. *Herpetological Journal*, 25, 5–13.

Sinsch, U., & Dehling, J. M. (2017). Tropical anurans mature early and die young: Evidence from eight Afrotropical *Hyperolius* species and a meta-analysis. *PLOS ONE*, 12(2), e0171666.

Sinsch, U., Di Tada, I. E., & Martino, A. L. (2001). Longevity, demography and sex-specific growth of the Pampa de Achala toad, *Bufo achalensis* Ceí, 1972. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 36(2), 95–104.

- Sinsch, U., Leskovar, C., Drobig, A., König, A., & Grosse, W. R. (2007). Life-history traits in green toad (*Bufo viridis*) populations: Indicators of habitat quality. *Canadian Journal of Zoology*, 85(5), 665–673.
- Sinsch, U., Marangoni, F., Oromi, N., Leskovar, C., Sanuy, D., & Tejedo, M. (2010). Proximate mechanisms determining size variability in natterjack toads. *Journal of Zoology*, 281(4), 272–281.
- Smirina, E. M. (1972). Annual layers in bones of *Rana temporaria*. *Zoologicheskii Zhurnal*, 51(10), 1529–1534.
- Smirina, E. M. (1986). Some results of the studies of growth in Anura. In Z. Roček (Ed.), *Studies in Herpetology: Proceedings of the European Herpetology Meeting* (pp. 263–270). Prague: Charles University.
- Smirina, E. M. (1994). Age determination and longevity in amphibians. *Gerontology*, 40(2–4), 133–146.
- Stearns, S. C. (1992). *The evolution of life histories*. Oxford University Press.
- Tejedo, M. (1992). Effects of body size and timing of reproduction on reproductive success in female natterjack toads (*Bufo calamita*). *Journal of Zoology*, 228(4), 545–555.
- Thompson, S. W., & Luna, L. G. (1978). *An atlas of artifacts encountered in the preparation of microscopic tissue sections*. Charles Louis Davis DVM Foundation.
- Tuttle, M. D., & Ryan, M. J. (1981). Bat predation and the evolution of frog vocalizations in the Neotropics. *Science*, 214(4521), 677–678.
- Valdujo, P. H., Silvano, D. L., Colli, G., & Martins, M. (2012). Anuran species compositions and distribution patterns in Brazilian Cerrado, a Neotropical hotspot. *South American Journal of Herpetology*, 7(2), 63–78.
- Vaz-Silva, W., Maciel, N. M., Nomura, F., Morais, A. R. D., Batista, V. G., Santos, D. L., Andrade, S. P., Oliveira, A. B., Brandão, R. A., & Bastos, R. P. (2020). *Guia de identificação das espécies de anfíbios (Anura e Gymnophiona) do estado de Goiás e do Distrito Federal, Brasil Central*. Sociedade Brasileira de Zoologia.
- von Bertalanffy, L. (1938). A quantitative theory of organic growth. *Human Biology*, 10, 181–213.
- Wells, K. D. (2019). *The ecology and behavior of amphibians* (2nd ed.). University of Chicago Press.
- Yetman, C. A., Mokonoto, P. J., & Ferguson, W. H. (2012). Conservation implications of the age/size distribution of Giant Bullfrogs (*Pyxicephalus adspersus*) at three peri-urban breeding sites. *The Herpetological Journal*, 22(1), 23–32.
- Yildiz, M. Z., & Göçmen, B. (2012). Population dynamics, reproduction, and life history traits of Taurus frog, *Rana holtzi* Werner, 1898 (Anura: Ranidae) in Karagöl (Ulukışla, Niğde), Turkey. *Herpetologica Romanica*, 6, 1–40.

Zornosa-Torres, C., & Hoyos, J. M. (2016). Relationship between body size and sexual maturity in *Dendropsophus columbianus* (Anura: Hylidae) and description of their sexual apparatus. *Herpetological Review*, 47(1), 19–23.