Notas de História Natural & Distribuição Geográfica

Malformações em cinco espécies de anuros em florestas urbanas do município do Rio de Janeiro, Sudeste do Brasil.

Thamiris Flor Baroni[1], Clarissa Canedo[1,2*], José P. Pombal Jr[1]

1 Departamento de Vertebrados, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Bartolomeu Gusmão 875, São Cristóvão, 20941-160 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

2 Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier 524, Maracanã, , 20550-90 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

* Corresponding author. Email: *clarissa.canedo@gmail.com*

DOI: *10.5281/zenodo.13308125*

Resumo. Estudos sobre malformações ou anomalias morfológicas em anuros têm aumentado nos últimos tempos, principalmente devido à preocupação com o declínio de populações e ao recorrente registro de indivíduos malformados em ambientes alterados. Estudos que analisam estas malformações são mais comuns em localidades perceptivelmente impactadas, tanto devido à potencial contaminação por agrotóxicos ou parasitas causadores destas malformações, quanto devido à observação prévia da proporção de indivíduos malformados. Por outro lado, para áreas com alterações ambientais pouco perceptíveis há poucos estudos. Considerando a metodologia, os estudos concentram-se na descrição da anatomia externa dos espécimes malformados ou anômalos, sendo pouco frequente a avaliação osteológica. Embora os estudos para espécies da região Holoártica sejam mais comuns, há um aumento destes estudos em anuros neotropicais. Contudo, a maioria destes artigos descrevem malformações em um ou poucos indivíduos, sendo raros estudos com abordagens populacionais ou experimentais. Neste estudo foram ana-

lisados indivíduos de cinco espécies de anuros do município do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. Os espécimes foram radiografados e analisados em microscópio estereoscópico, as malformações foram quantificadas e descritas. Entre 622 espécimes analisados, foram encontrados 20 espécimes malformados: oito *Hylodes nasus*, seis *Aplastodiscus albofrenatus*, três *Adenomera marmorata*, dois *Brachycephalus ephippium* e um *Ischnocnema guentheri*, poucas ocorrências como esperado para populações de áreas sem impactos aparentes. Novas categorias de malformações foram encontradas e descritas: Falange Curva e Cintura Pélvica Incompleta.

Palavras-chave: *Adenomera marmorata*, Anomalias, *Aplastodiscus albofrenatus, Brachycephalus ephippium*, Deformidades, *Hylodes nasus, Ischnocnema guentheri.*

***Abstract*.** In recent years, there has been a significant increase in studies focused on malformations and morphological anomalies in anuran species. This is primarily a consequence of growing concern on the observed decline of natural populations of anurans, and the widespread reports of malformed individuals within altered environments. As a result, most of the studies have been conducted in areas where the environmental alterations are noteworthy, such as areas with potential pesticide contamination. In areas with less perceptible environmental impacts, the number of studies remains limited. Most of the available data focus on the external anatomy of malformed specimens, while very few describe the osteology of these specimens. Although such studies increasingly deal with Neotropical species, most studies focus on the Holoarctic region. It is noteworthy that most of these articles describe malformations for a limited sample, with population-based or experimental approaches being relatively rare. We conducted a large-scale analysis of individuals in five anuran species within the Parque Nacional da Tijuca, Rio de Janeiro, southeastern Brazil. We examined 622 specimens for external malformation using a stereoscopic microscope and radiographed all the specimens for osteological malformation. The malformations were quantified and comprehensively described. Among the 622 specimens analyzed, we identified 20 malformed individuals, encompassing eight *Hylodes nasus*, six *Aplastodiscus albofrenatus*, three *Adenomera marmorata*, two *Brachycephalus ephippium*, and one *Ischnocnema guentheri*. The low occurrence of malformations corroborates the hypothesis that they are rare in areas with little environmental impact. Furthermore, we described for the first time two new categories of malformations, namely 'Curved Phalanx' and 'Incomplete Pelvic Girdle'.

Keywords: *Adenomera marmorata*, Anomalies, *Aplastodiscus albofrenatus*, *Brachycephalus ephippium*, Deformities, *Hylodes nasus*, *Ischnocnema guentheri*, Reproductive modes.

INTRODUÇÃO

Malformações congênitas ou desenvolvimento anormal são resultado de alterações e erros nos processos de desenvolvimento que ocorrem durante a fase embrionária, causando morfologias alteradas e anômalas, geralmente assimétricas (Meteyer et al., 2000; Kalter, 2003). Tais anomalias morfológicas têm sido registradas na literatura há centenas de anos (e.g., De Superville, 1739) e encontradas em diversas espécies de vertebrados (Hascheck et al., 2013). Em anuros há registros de anomalias até mesmo na arte e mitologia chinesa (Henle et al., 2017a).

Declínios em populações de anfíbios têm sido detectados desde a década de 1970 (Blaustein & Wake, 1990), ganhando mais atenção a partir de meados da década de 1980 (Kaiser, 1997). O crescente registro das anomalias morfológicas como potenciais indicadores de alterações ambientais têm chamado a atenção de pesquisadores (Henle et al., 2017b; Meteyer, 2000). Os estudos a respeito dos efeitos de substâncias agrotóxicas utilizadas em regiões agrárias também cresceram consideravelmente a partir da década de 1990 (D'Ávila et al., 2020).

Ao analisar a presença de malformações em anuros, nem sempre é possível definir com precisão as causas das anomalias morfológicas (Meteyer, 2000; Lunde & Johnson, 2012; Henle et al., 2017a; Bosch et al., 2021; Carmo et al., 2021). Lannoo (2009) destaca três categorias de mecanismos que resultam em malformações ou anomalias morfológicas: os mecanismos genéticos, os epigenéticos e os traumáticos. Altas taxas de ocorrência de anomalias em anfíbios são frequentemente relacionadas à influência da poluição por agentes químicos (e.g., Kaiser, 1997; Ouellet et al., 1997; Meteyer, 2000; Hascheck et al., 2013), além de outros possíveis causadores do desenvolvimento anormal, tanto agentes físicos como a incidência de raios UV (Kaiser, 1997), quanto agentes biológicos como predação (Lannoo, 2008) e infecções parasitárias (Johnson & Chase, 2004; Lunde & Johnson, 2012; Svinin et al., 2020). Desta forma, as malformações podem ser causadas por fatores endógenos e exógenos, tanto mecânicos quanto patogênicos (Meteyer, 2000; Lunde & Johnson, 2012). No entanto, ocasionalmente é difícil distinguir anomalias causadas por lesões de malformações, sem que haja um detalhado estudo de caso (Henle et al., 2017a).

Estudos que analisam as malformações de anuros são frequentemente desen-

volvidos em áreas perceptivelmente impactadas. Entre eles, incluem-se os estudos desenvolvidos em áreas destinadas a atividades agrícolas, geralmente com potencial de alta contaminação por agrotóxicos ou com detecção prévia de destacada proporção de indivíduos malformados (e.g. Ouellet et al., 1997; Ouellet, 2000; Johnson et al., 2002; Toledo & Ribeiro, 2009; Tolledo & Toledo, 2015; Carmo et al., 2021). Registram-se também estudos desenvolvidos em ambientes potencialmente afetados por parasitas (e.g., Portela et al., 2020), como o trematódeo *Ribeiroia ondatrae* (Prince, 1931) que causa malformações nos apêndices de anfíbios (e.g., Johnson et al., 2002; Johnson & Chase, 2004; Lunde & Johnson, 2012). Também há estudos que testam experimentalmente os efeitos de agentes químicos no desenvolvimento de anfíbios, analisando sua ação teratogênica durante o desenvolvimento embrionário em laboratório (e.g. Yu et al., 2013; Cuzziol-Boccioni et al., 2020; Ko, 2020; Silva et al., 2020).

Estudos desenvolvidos em áreas aparentemente livres de impactos ou com alterações ambientais pouco detectáveis ainda são incomuns (e.g. Peloso, 2016; Shin et al., 2020) e, neste caso, espera-se que sejam encontradas taxas de prevalência mais baixas. Geralmente, são esperados para áreas não impactadas, proporções que variam entre 0–5% de espécimes afetados por malformações (Ouellet, 2000; Lunde & Johnson, 2012). Tais estudos populacionais em ambientes livres de impactos, apesar de pouco comuns, são fundamentais como base de comparação para as pesquisas sobre as populações de ambientes alterados.

Metodologicamente, os estudos concentram-se na descrição das malformações com base na observação da anatomia externa dos espécimes analisados (e.g., Peltzer et al., 2011; Ascoli-Morrete et al., 2019; Martínez & Botero, 2019). São pouco comuns os estudos que utilizam métodos de análise osteológica como o preparo de espécimes diafanizados (e.g. Kovalenko & Kovalenko, 1996; Kovalenko & Kruzhkova, 2013), que permitem detalhar e identificar corretamente as malformações presentes em todo o esqueleto. Também ainda são pouco comuns os estudos que utilizam métodos não invasivos para análise osteológica como as radiografias (e.g., Meteyer, 2000; Toledo & Ribeiro, 2009) ou, ainda mais raras, as tomografias (e.g., Peloso, 2016), técnicas que possibilitam ampliar significativamente o número de espécimes nas análises osteológicas detalhadas.

Quanto à distribuição dos estudos nas diferentes regiões geográficas, verifica-se que trabalhos sobre malformações em anuros da região Holoártica são numerosos (e.g., Ouellet et al., 1997; Lunde & Johnson, 2012; Kovalenko &

Kruzhkova, 2013; Reeves et al., 2013), no entanto, recentemente tem havido crescimento substancial dos estudos abordando malformações em anuros neotropicais (e.g., Peloso, 2016; Silva-Soares & Mônico, 2017; Rebouças et al., 2019, Agostini et al., 2020; Carmo et al., 2021). Contudo, a maioria dos artigos nesta região constituem descrições pontuais, estudos de caso que descrevem malformações em um único ou poucos indivíduos (e.g., Peloso, 2016; Silva-Soares & Mônico, 2017; Martínez & Botero, 2019), sendo menos comuns estudos com abordagens populacionais (e.g., Toledo & Ribeiro, 2009; Pedroso-Santos et al., 2020; Carmo et al., 2021) ou experimentais (e.g., Yu et al., 2013, Cuzziol-Boccioni et al., 2020), e mesmo os estudos desenvolvidos em áreas agrícolas e expostas a produtos potencialmente teratogênicos ainda não são abundantes na região neotropical (e.g., Ascoli-Morrete et al., 2019; Ferrante & Fearnside, 2020).

Neste estudo, através de observação da anatomia externa e de radiografias, analisamos malformações e/ou anomalias em exemplares previamente depositados em coleções herpetológicas pertencentes a cinco espécies de anuros, provenientes de unidades de conservação do município do Rio de Janeiro, Domínio Morfoclimático da Mata Atlântica (sensu Ab´Saber, 1977), sudeste do Brasil, a fim de registrar e descrever as malformações nestas populações provenientes de ambientes sem degradação destacável. Aqui, malformações ou anomalias causadas por traumas (e.g. tentativas de predação, acidentes) são tratadas em conjunto.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo analisou espécies provenientes de populações do Parque Nacional da Tijuca, do Parque Estadual da Pedra Branca e do Parque Estadual do Mendanha, unidades de conservação com predominância de vegetação florestal, localizadas na cidade do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro, Brasil. Foram examinados 622 exemplares de cinco diferentes espécies, distribuídos em quatro famílias de anuros, como se segue: 99 de *Aplastodiscus albofrenatus* (A. Lutz, 1924), Hylidae; 171 de *Hylodes nasus* (Lichtenstein, 1823), Hylodidae; 160 de *Adenomera marmorata* (Steindachner, 1867), Leptodactylidae; 90 de *Brachycephalus ephippium* (Spix, 1824) e 102 de *Ischnocnema guentheri* (Steindachner, 1864), ambos Brachycephalidae. Os espécimes encontravam-se previamente depositados em coleções herpetológicas, tendo sido utilizados todos os espécimes disponíveis para as localidades relacionadas acima, incluindo diferentes eventos de coleta. Foram obtidos espécimes pertencentes à coleção Célio F. B. Haddad, depositada no Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, *Campus* de Rio Claro, Brasil (CFBH); à coleção do

Laboratório de Herpetologia do Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil (ZUFRJ); e à coleção de anfíbios do Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil (MNRJ), com amplitude temporal do material analisado entre 1940 e 2019. A lista completa de exemplares examinados está no Apêndice 1.

Para registro e descrição das malformações, foram analisadas morfologia externa e osteologia. A morfologia externa dos espécimes foi observada com auxílio de estereomicroscópio. Para a análise da osteologia foram produzidas radiografias de todos os espécimes em vista dorsal no equipamento de radiografia digital Faxitron X-ray da Central Analítica Virtual (CAV) do Departamento de Vertebrados, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, utilizando como parâmetros de regulagem KV18 com tempo de exposição de 11 segundos. Este aparelho produz imagens digitais que foram identificadas individualmente e posteriormente analisadas utilizando-se ajustes de brilho e contraste através do software de edição de imagens, para melhor evidenciar as estruturas registradas.

As malformações registradas foram identificadas de acordo, principalmente, com o glossário de Henle et al. (2017b), complementado com Meteyer (2000), Ouellet (2000) e Kovalenko & Kruzhkova (2013). Nomenclatura e definição das malformações utilizadas para o esqueleto axial, como se segue. Síndrome de distúrbio de segmentação: alteração no tamanho e forma das vértebras localmente ou por toda a coluna vertebral podendo gerar uma série de anomalias, como assimetria da coluna e, em casos extremos, escoliose; padrão escalonado da coluna vertebral em rudimentos com fusão de números ímpares de rudimentos vertebrais; meia vértebra livre – também chamada de segmento intercalar – sendo possível a ocorrência de número não inteiro de vértebras (Kovalenko & Kruzhkova, 2013). **Síndrome de assimetria crescente:** diferença de assimetria no comprimento entre os segmentos vertebrais do lado esquerdo e direito do corpo, onde segmentos opostos se apresentam com um grau de deslocamento (assimetria) aumentando caudalmente; quanto maior a diferença, mais forte o deslocamento relativo dos segmentos e maior a assimetria de sua disposição em direção a extremidade caudal do corpo (Kovalenko & Kruzhkova, 2013). **Escoliose**: curvatura lateral da coluna vertebral (Meteyer, 2000). **Assimetria do sacro**: diapófises sacrais em vértebras diferentes (Henle et al., 2017b). **Número aumentado de diapófises sacrais**: ocorrência de três ou quatro diapófises sacrais, as adicionais formadas na última vértebra pré-sacral ou no segmento

pós-sacral, podendo ser no uróstilo ou em uma vértebra adicional autônoma (Kovalenko & Kruzhkova, 2013). **Vértebra pós-sacral:** segmento anterior do uróstilo se apresenta com limite distinto, mantendo traços de desenvolvimento característico de vértebras livres; pode estar totalmente autônomo, com articulações móveis tanto com a vértebra sacral, quanto com o uróstilo, ou restrito à lateral direita ou esquerda; a presença de meia vértebra pós-sacral livre ou bem desenvolvida pode ser bilateralmente simétrica (Kovalenko & Kruzhkova, 2013).

Nomenclatura e definição das malformações do esqueleto apendicular segundo Henle et al. (2017b), como se segue. **Cintura pélvica incompleta** (classificação proposta neste estudo): ausência de parte ou a totalidade de elementos na cintura pélvica. **Polimelia**, subclassificação **Polipodia**: apêndice com um ou mais pé ou mão, mesmo que com ossos parcialmente presentes, desde que seja mais que a simples duplicação de dígitos. **Polifalangia**: osso extra em um dígito em arranjo linear, ou seja, sem dividir o dígito. **Ectromelia:** ausência parcial ou completa de apêndices, inclui subcategorias referentes a partes específicas ausentes. **Amelia**: um ou mais apêndices totalmente ausentes, uma subclassificação de Ectromelia. **Anormalidade tarsália**: ossos do pé fundidos, ausentes ou ossos adicionais presentes. **Braquidactilia**: dígitos anormalmente curtos, que pode ser devido à ocorrência de **Hipofalangia** (ausência de uma ou mais falanges), **Braquifalangia** (redução do tamanho de uma ou mais falanges) ou uma combinação de ambas. Neste estudo, incluímos em Braquidactilia a nova subclassificação **Falange curva**: falange com acentuada curvatura que resulta em encurtamento do dígito. Malformações não listadas não foram registradas neste estudo. A nomenclatura geral de dígitos, carpo e tarso segue Fabrezi (1993) e Fabrezi & Alberch (1996) e terminologia descritiva para falanges segundo Blotto et al. (2020).

Como exemplares em líquido conservante perdem as cores e apresentam seu padrão de colorido usualmente esmaecido, não foram avaliadas anomalias relacionadas a coloração (veja Henle et al., 2017b) pois seria indicado examinar espécimes em vida. Fraturas, ferimentos cicatrizados e/ou não cicatrizados para os quais foi possível diferenciar de malformações através de radiografias ou análises morfológicas externas foram desconsiderados nas análises.

Foram identificadas e descritas todas as malformações osteológicas observadas no esqueleto axial e apendicular. A prevalência de malformações por espécie e por região do corpo afetada foi quantificada pelo cálculo de porcentagem, considerando o número de indivíduos

que apresentaram malformações em relação ao total examinado em cada espécie. Os espécimes com malformações tiveram o comprimento rostro-cloacal (CRC) medido com paquímetro com precisão de 0,1 mm.

RESULTADOS

Foram registrados 20 indivíduos malformados, nos quais foram identificadas e descritas 25 ocorrências de malformações. As tabelas 1 e 2 resumem as malformações encontradas, seu número e as espécies onde ocorreram. A seguir são descritas as malformações encontradas.

Esqueleto axial.

Foram registrados 11 espécimes com malformações na coluna vertebral. Em um dos casos, a anomalia se distribuiu por toda a extensão da coluna, mas nos outros (n=10), as malformações ocorreram na região sacral, com diferentes alterações, sendo este o tipo de malformação mais comum neste estudo. Também foram registrados dois exemplares com uma vértebra pós-sacral, estrutura inexistente nos anuros com desenvolvimento normal.

Vértebras pré-sacrais.

Síndrome de distúrbio de segmentação. Uma ampla anomalia foi verificada atingindo toda a extensão da coluna de um de espécime de *Aplasdodiscus albofrenatus* (Fig. 1; MNRJ 48044), nas vértebras pré-sacrais IV a VII, que apresentam corpos vertebrais com formato e tamanho irregulares. Também foi registrada escoliose (veja abaixo) e foram observados processos transversos assimétricos em presença, tamanho e/ou em direcionamento.

Síndrome de assimetria crescente. O espécime MNRJ 48044 de *A. albofrenatus* (Fig. 1), amplamente acometido de síndrome do distúrbio de segmentação acarretando escoliose e processos transversos assimétricos em presença, tamanho e/ou em direcionamento. O espécime ZUFRJ 109 de *Hylodes nasus* (Fig. 2B), além de assimetria do sacro (veja abaixo), apresenta ao longo da coluna vertebral pequena assimetria dos processos transversos em vértebras pré-sacrais progredindo caudalmente.

Escoliose. Identificada no espécime MNRJ 48044, *A. albofrenatus* (Fig. 1), cujas malformações ocorrem em grande parte da extensão da coluna vertebral. Por sua vez, o indivíduo de *H. nasus* (Fig. 2A; MNRJ 31898), possui curvatura lateral da coluna vertebral restrita às proximidades do sacro (veja adiante malformação de assimetria do sacro).

Região sacral.

Assimetria do sacro. Em contraste com a anatomia padrão dos anuros que possuem apenas uma vertebral sacral cujas diapófises articulam-se com o íleo dando sustentação a cintura pélvica, diversos espécimes apresentaram mais de uma vértebra sustentando a cintura pélvica, resultando em uma região sacral assimétrica anômala.

O indivíduo MNRJ 31898 de *H. nasus* (Fig. 2A) possui duas vértebras sustentando a cintura pélvica. A última vértebra, correspondente à vértebra sacral, possui diapófise sacral apenas do lado direito e a vértebra imediatamente anterior, que seria a última vértebra pré-sacral, sustenta a cintura pélvica no lado esquerdo. A região sacral anômala causa assimetria e consequente escoliose. A vértebra sacral no exemplar de *H. nasus* (ZUFRJ 109; Fig. 2B), possui o processo do lado direito reduzido e, neste lado, a última vértebra pré-sacral sustenta a cintura pélvica. A vértebra está levemente inclinada, mas não acarretou escoliose. Ao longo da coluna vertebral também é possível observar uma pequena assimetria dos processos transversos. Em dois espécimes de *A. albofrenatus* (ZUFRJ 6920, 6921; Fig. 2C, D), respectivamente), a vértebra sacral não possui diapófise sacral esquerda. A cintura pélvica é sustentada no lado esquerdo pela primeira vértebra pré-sacral, com a diapófise direita na vertebra sacral. Em todos estes espécimes a cintura também teve a morfologia alterada com assimetria no tamanho dos ílios, compensando a assimetria da sustentação sacral. Esta assimetria não foi apresentada como malformação independente.

Processo Transverso Adicional. Em um indivíduo de *Brachycephalus ephippium* (MNRJ 40785; Fig. 3A) há um pequeno processo adicional no lado esquerdo, entre o processo transverso da última vértebra pré-sacral e a diapófise sacral. Provavelmente devido à sua presença, o processo transverso encontra-se projetado cranialmente e a diapófise sacral está projetada caudalmente, causando deslocamento lateral assimétrico da cintura pélvica. Em *Ischnocnema guentheri* (MNRJ 45326; Fig. 3B), observa-se um processo transverso adicional no lado direito da vértebra sacral, anterior à diapófise sacral direita. Adicionalmente, a vértebra sacral se encontra deslocada lateralmente, e a diapófise sacral direita tem orientação deslocada caudalmente.

Número aumentado de diapófises sacrais. Foram registrados processos na região anterior do uróstilo, que se estendem até o ílio e apresentam extremidade lateral alargada, atuando como diapófises sacrais adicionais. Um espécime de *Adenomera marmorata* (MNRJ 49400; Fig. 4A), após a vertebra sacral, apresenta a região anterior

do uróstilo com um processo direito em contato com o ílio, imediatamente após a diapófise sacral direita, que também está em contato com o íleo, sustentando a cintura pélvica. No indivíduo MNRJ 64735 de *A. marmorata* (Fig. 4B), o uróstilo se encontra alargado na extremidade cranial, apresentando parcialmente o formato de vértebra individualizada, e, em seu lado direito, um processo de extremidade alargada sustenta o íleo. A diapófise da vértebra sacral, deste mesmo lado, é afilada, direcionada caudalmente e curvada a partir de sua região central.

Região Pós-Sacral.

Vértebra Pós-Sacral. Entre a vértebra que sustenta a cintura pélvica e o uróstilo do indivíduo MNRJ 18478 de *Hylodes nasus* (Fig. 5A), há uma vértebra livre de contato com a cintura pélvica, mas que em conformação não anômala corresponderia à vértebra sacral. A cintura encontra-se sustentada pela que deveria ser a última vértebra pré-sacral, cujos dois processos em contato com o íleo são mais estreitos na extremidade do que diapófises sacrais normais. O indivíduo de *Aplastodiscus albofrenatus* (ZUFRJ 6927; Fig. 5B) tem de uma vértebra adicional que se encontra após a vértebra sacral, independente do uróstilo. Esta vértebra adicional contém processos laterais pequenos e assimétricos em tamanho, orientados em direção caudal. Os íleos se apresentam alongados, ultrapassando ligeiramente as diapófises sacrais, que são levemente assimétricas, assim como os processos transversos das vértebras pré-sacrais IV e V, que foram consideradas variações pelo baixo impacto na morfologia normal da coluna do animal.

Esqueleto Apendicular.

Foram registrados nove espécimes com malformações no esqueleto apendicular, sendo a maioria afetada no apêndice pélvico (n = 6).

Cintura pélvica incompleta. Em um *Aplastodicus albofrenatus* (ZUFRJ 672; Fig. 6) é possível perceber que o ílio esquerdo está incompleto. O formato em sua extremidade indica que não foi cortado ou fraturado pós-morte, não estando presentes quaisquer fragmentos de osso. Além do ílio, também se nota que o processo transverso esquerdo da vértebra sacral encontra-se incompleto, porém não é possível observar com definição a extremidade do osso, como no caso do ílio. Desta forma, a cintura pélvica está incompleta, sem sustentação lado esquerdo. Ademais, é perceptível a assimetria no formato e orientação do processo transverso esquerdo na última vértebra pré-sacral, também pouco visível nas vértebras V e VII.

Amelia. O apêndice direito é ausente inteiramente em um indivíduo de *Hylodes nasus* (MNRJ 31908; Fig. 7).

Ectromelia. Um indivíduo de *H. nasus* (MNRJ 32075; Fig. 8) apresenta ausência parcial em extensão, a partir da metade da altura da tíbio-fíbula, do apêndice pélvico esquerdo.

Braquidactilia, subclassificações Falange Curva, Braquifalangia e Hipofalangia. Um espécime de *H. nasus* (MNRJ 40550; Fig. 9) apresenta a falange basal do dígito III da mão direita com acentuada curvatura além de encurtamento do metacarpal III, resultando em alteração no tamanho e na forma do dígito. Em outro indivíduo de *H. nasus* (MNRJ 31907; Fig. 10) há redução da falange distal do dígito III da mão esquerda, resultando em um dígito anormalmente curto. Um outro espécime de *Hylodes nasus* (MNRJ 34200; Fig. 12) tem várias falanges reduzidas ou ausentes no pé esquerdo, além de ocorrência de anormalidade tarsália como descrito abaixo.

Anormalidade tarsália. Um *Brachycephalus ephippium* (MNRJ 9391; Fig. 11) com região tarsal amplamente alterada e metatarsais IV e V fundidos, resultando em grande alteração da morfologia do pé esquerdo. Em outro espécime, um *Hylodes nasus* (MNRJ 34200; Fig. 12), tibiale e fibulare apresentam tamanho reduzido e encontram-se curvados, significativamente separados, metatarsais estão reduzidos em tamanho, fusionados juntamente aos elementos tarsais, e há ampla ocorrência de braquidactilia por braquifalangia e hipofalangia, como destacado acima. As alterações também resultaram em braquipodia ou encurtamento do pé, porém a extensão de ossos afetados e variedade de alterações conjuntas são mais bem caracterizadas como anormalidade tarsália.

Polifalangia. A terceira falange do dígito IV do pé direito em um indivíduo de *Adenomera marmorata* (MNRJ 58817, Fig. 13) está dividida em duas, resultando em número extra de falanges neste dígito.

Polimelia, subclassificação Polipodia. Verifica-se em um indivíduo *Aplastodicus albofrenatus* (ZUFRJ 678; Fig. 14) uma projeção óssea anômala, junto à extremidade distal da tíbio-fíbula, cuja anatomia sugere calcâneo, astrágalo, tarso, metatarso e falanges pouco desenvolvidos. Esta anormalidade pode ser classificada como Polipodia, uma vez que a extensão aparenta ser um pé extranumerário, embora com ossos adicionais pouco parcialmente presentes e pouco desenvolvidos.

Prevalência de malformações por espécie e por região do corpo

A frequência de indivíduos malformados registrados representa 3,21% de espécimes analisados (20 malformados, 622 analisados): para *Aplastodiscus albofrenatus*, um total de seis espécimes foram registradas com malformações, representando 6,06% do total para a espécie (n = 99); oito espécimes de *H. nasus* apresentaram malformações, totalizando 4,67% dos espécimes analisados para a espécie (n = 171); três espécimes de *Adenomera marmorata* apresentaram malformações, representando 1.8% do total para a espécie (n = 160); para *Brachycephalus ephippium* foram registrados dois espécimes com malformações, representando 2,22% do total para a espécie (n = 90); e em apenas um espécime de *Ischnocnema guentheri* foi registrada malformação, representando 0,98% do total para a espécie (n = 102).

Entre as malformações registradas, 11 ocorreram na coluna vertebral, sendo oito na região sacral. A prevalência de indivíduos com malformação na coluna vertebral representa 1,76% do total de espécimes analisados: quatro espécimes de *A. albofrenatus* foram registradas com malformações na coluna vertebral, 0,64% dos espécimes analisados; três espécimes de *H. nasus* apresentaram malformações na coluna vertebral, totalizando 0,48% dos analisados; dois espécimes de *A. marmorata* apresentaram malformações na coluna vertebral, 0,32% dos espécimes analisados; para *B. ephippium* um espécime apresentou malformação na coluna vertebral, totalizando 0,16% dos analisados; e também apenas um espécime de *I. guentheri* foi registrado com malformação na coluna vertebral, representando 0,16% dos espécimes analisados.

Nos apêndices posteriores nove malformações foram registradas no total, representando uma prevalência de 1.44%: dois espécime de *A. albofrenatus* foram registrado com malformações no apêndice posterior, representando 0,32% do total analisado; cinco espécimes de *H. nasus* apresentaram malformações no apêndice posterior, 0,80% do total analisado; um espécimes de *A. marmorata* apresentaram malformações no apêndice posterior, 0,16% dos espécimes analisados; e para *B. ephippium* um espécime apresentou malformação no apêndice posterior, totalizando 0,16% dos espécimes analisados. Nenhum espécime de *I. guentheri* foi registrado com malformação no apêndice posterior.

Em relação aos apêndices anteriores, apenas duas malformações em metacarpos e falanges foram detectadas, representando 0,32% do total de espécimes analisados. Ambos os espécimes afetados por malformações nos apêndices peitorais eram *H. nasus*, totali-

zando 1,16% de prevalência para esta espécie.

Uma única malformação exclusiva da cintura pélvica foi detectada, 0,15% do total de espécimes analisados. O espécime afetado pela malformação na cintura pélvica foi em um exemplar de *A. albofrenatus*, representando 1,01% de prevalência para esta espécie.

DISCUSSÃO

Os estudos sobre malformações morfológicas em anuros têm aumentado (Henle et al., 2017b; Meteyer, 2000), e vêm recebendo maior atenção devido à preocupação com a conservação das populações de anfíbios, especialmente frente aos declínios populacionais (Henle et al., 2017b) e ao recorrente registro de altas taxas de malformações em ambientes com malformações previamente detectadas (Toledo & Ribeiro, 2009). No entanto, ainda há uma grande carência de estudos, com implicações ao conhecimento sobre malformações de anuros e seus diferentes aspectos.

Considerando-se aspectos metodológicos, a maioria dos estudos de malformações em anfíbios, principalmente em anuros, restringe-se a métodos de diagnóstico em campo e técnicas de análise apenas da morfologia externa para registro e descrição das malformações (Johnson & Chase, 2004; Peltzer et al., 2011; Reeves et al., 2013). Portanto, dados acerca de malformações internas, que permanecem imperceptíveis externamente, tendem a não ser registrados. Por outro lado, métodos que possibilitam a análise osteológica ampla tendem a limitar o número de espécimes analisados, o que também pode comprometer a abrangência dos registros e o conhecimento da prevalência das malformações.

Lunde & Johnson (2012) propõem o diagnóstico de malformações em campo por ser um método de baixo custo e não letal, possibilitando a liberação dos indivíduos com vida após a análise. Esses autores também defendem o foco dos estudos em indivíduos metamórficos e a utilização de métodos como dissecção, radiografias e diafanização apenas em espécimes previamente identificados como malformados (Lunde & Johnson, 2012). Por um lado, esta abordagem permite a análise imediata de grande número de espécimes na população no início de sua vida, garantido que malformações debilitantes sejam registradas antes que acarretem a morte dos indivíduos. No entanto, também pode suprimir da análise uma variedade de tipos de malformações não visíveis externamente.

No presente estudo, foram utilizadas radiografias para análise de malformações em material previamente

depositado em coleções científicas, o que permitiu a análise detalhada de malformações osteológicas aplicada a vários indivíduos. Por se tratar de um método não destrutivo para material de coleções, permite a análise de muitos espécimes ao mesmo tempo em que preserva os exemplares para outros estudos. Métodos invasivos como a diafanização limitam o tamanho amostral, tendendo também a limitar a análise mais detalhada somente aos indivíduos previamente identificados com anomalias (e.g., Kovalenko & Kovalenko, 1996; Kovalenko & Khruskova, 2013). Quanto a análises por meio de aparelho microtomógrafo, por se tratar de equipamento de custo elevado ainda tem sua utilização limitada. A utilização da radiografia, método bastante satisfatório e viável no presente momento e que já foi verificada como eficaz para visualização de malformações (Meteyer, 2000), foi considerada essencial neste estudo para a detecção de malformações do esqueleto axial.

Malformações no esqueleto axial em geral são pouco relatadas na literatura, possivelmente devido à carência de estudos cujas metodologias permitam a análise da anatomia interna (Peltzer et al., 2011; Reeves et al., 2013; Svinin et al., 2020. Na análise aqui desenvolvida, a maioria das anomalias registradas afetou a coluna vertebral, particularmente a região sacral. Isto difere da literatura acessada, cujos trabalhos revelam uma prevalência substancial e comparativamente superior no esqueleto apendicular, principalmente nas pernas (Ouellet et al., 1997; Peltzer et al., 2011; Ascoli-Morrete et al., 2019), possivelmente este seja um viés da análise, decorrente da não aplicação de métodos que permitam a observação da morfologia interna. Porém, mesmo nos estudos que analisaram a anatomia interna e que mencionam malformações de coluna, uma prevalência menor de malformações da coluna vertebral pode ser encontrada (Toledo & Ribeiro, 2009). Em alguns estudos com análise da anatomia interna e que registraram malformações na coluna, tais anomalias não são tipificadas (e.g., Peloso, 2016), ou foram consideradas como variação individual (e.g., Kovalenko & Kruzhkova, 2013), em contraste com a detalhada categorização das malformações em esqueleto apendicular (Meteyer, 2000; Ouellet, 2000).

Acerca da padronização das classificações, a nomenclatura utilizada na descrição das malformações em anfíbios é muito variável, gerando glossários com diferentes termos para as mesmas anomalias e constantemente modificados (Borkin et al., 2012; Lunde & Johnson, 2012). Tal falta de padronização na terminologia dificulta comparações entre os diferentes estudos e anomalias registradas (Henle et al., 2017b). A maioria das malformações aqui registradas encontra-se previamente classificada

na literatura. Porém, ainda assim, algumas anomalias reconhecidas neste estudo não foram previamente descritas, levando à inclusão de duas sugestões de novos tipos de malformações e uma proposta de adequação de definição, para melhor enquadramento da anomalia registrada na classificação. Destacam-se as novas malformações no esqueleto apendicular, cuja literatura já é mais abundante e as classificações em geral são mais detalhadas (Meteyer, 2000; Ouellet, 2000; Henle et al., 2017b).

A malformação "Falange Curva" é proposta neste trabalho como subclassificação de Braquidactilia. A morfologia anômala registrada, onde a curvatura ocorre na falange basal do dígito III da mão direita (Fig. 9), diferencia-se bastante de outras categorias já existentes como a artrogripose, que identifica curvaturas em articulações (Henle et al., 2017b). Outro novo tipo de malformação aqui proposto, Cintura pélvica incompleta (Fig. 6), ainda não havia sido registrada.

A variação na nomenclatura, o registro de malformações com alocação incerta e a falta de registros para determinadas anomalias sugerem que ainda são necessários estudos revisivos da classificação vigente para uma mais adequada padronização nomenclatural.

Prevalência de malformações por espécie

As frequências de indivíduos malformados registradas nas diferentes espécies estudadas estiveram, em geral, dentro do valor referido na bibliografia como padrão para populações naturais. Ouellet (2000) e Lunde & Johnson (2012) sugerem que um valor entre 0-5% de indivíduos anômalos seria esperado para anfíbios em populações naturais. Neste estudo, apenas *Aplastodiscus albofrenatus* com cerca de 6% de indivíduos malformados, seria marginalmente superior ao valor de referência. Em ambientes sob forte pressão antrópica, como áreas agrícolas que sofrem com a aplicação de substâncias agrotóxicas, a média de anomalias encontradas em anuros costuma ser bem superior, ultrapassando os 60% de prevalência (Ouellet et al., 1997). O material examinado neste estudo é proveniente de áreas florestais dentro de unidades de conservação, mas encontra-se dentro de uma grande região metropolitana, não sendo possível descartar completamente a possibilidade dos impactos ambientais (Netto, 2005). Desta forma, a baixa frequência aqui registrada é um indício de qualidade, mesmo que relativa, destes ambientes.

Ao se comparar diferentes estudos sobre este tema, é preciso considerar que o estágio da vida é um fator determinante da frequência de anormalida-

des registradas, pois a proporção de indivíduos malformados tende a diminuir progressivamente ao longo do tempo de vida, devido a diferenças na taxa de sobrevivência (Johnson et al., 2002). Desta forma, espera-se encontrar maior frequência de indivíduos malformados quando analisados estágios larvais e recém metamorfoseados, em comparação com o estágio adulto. Lunde & Johnson (2012) propõem que as análises de malformações devem focar nas observações de indivíduos em estágio metamórfico, pouco antes ou recentemente metamorfoseados, para maximizar o registro de malformações. De fato, esta abordagem permite o registro daquelas malformações críticas à sobrevivência, trazendo um levantamento mais real da prevalência de malformações durante o desenvolvimento, por outro lado, reduz grandemente a possibilidade de análise das malformações internas, como as de coluna e sacro, comumente identificadas neste estudo. No presente estudo, foram analisados apenas espécimes plenamente metamorfoseados e na maioria adultos, o que se espera que resulte em frequências de malformações mais baixas.

Em populações com baixa prevalência de malformações é esperado que anomalias menos incapacitantes, como a falta de dígitos ou alterações restritas a parte dos apêndices, sejam as mais comuns (Johnson et al., 2002). Contudo, malformações amplas como a ausência parcial ou total de apêndices posteriores, frequentemente encontradas na literatura (Ouellet, 1997; Peltzer et al., 2011; Ascoli-Morrete et al., 2019), também foram aqui registradas, indicando que o possível viés ao se investigar animais já adultos pode não ter sido tão destacável. Por outro lado, a possibilidade de sobrevivência pode ter interferido no tipo de malformação de sacro aqui registrado, uma vez que todos os casos de assimetria, onde apenas um lado da cintura é sustentado pela diapófise da vértebra sacral, parecem ser funcionais devido à sustentação do lado oposto ter sido provida pela última vértebra pré-sacral, e a assimetria apresentar-se compensada pelo comprimento diferencial dos ílios.

Contudo, ainda que animais adultos sejam encontrados, indicando que estas malformações não são letais, nada se sabe sobre uma possível interferência no sucesso reprodutivo destes indivíduos.

Concluindo, (1) a utilização da radiografia é uma metodologia viável para a análise da anatomia interna de muitos exemplares e mostrou-se fundamental neste estudo para detectar o maior número de malformações, registradas no esqueleto axial; (2) as prevalências de malformações registradas para as cinco espécies aqui estudadas são relativamente baixas e condizentes com populações de áreas sem impactos am-

bientais excepcionais, embora tal valor possa ter sido baixo devido ao uso de espécimes plenamente metamorfoseados e em geral adultos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Hélio R Silva e Marcelo R. Britto pela leitura de uma versão prévia deste manuscrito. À Célio F. B. Haddad (CFBH), Sérgio P. Carvalho e Silva e Márcia R. Gomes (ZUFRJ) pelo acesso a exemplares sob seus cuidados. Manoela W. Cardoso e Pedro Pinna pelo auxílio junto à coleção de Anfíbios do Museu Nacional e Marcelo A. Soares pelas muitas radiografias. Cristiano Moreira revisou o abstract. TFB recebeu bolsa de mestrado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e JPPJ recebeu auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

REFERÊNCIAS

Ab'Saber A.N. 1977. Os domínios morfoclimáticos da América do Sul. *Geomorfologia,* 52:1–22.

Agostini M.G., Roesler I., Bonetto C., Ronco A.E., Bilenca D. 2020. Pesticides in the real world: The consequences of GMO-based intensive agriculture on native amphibians. *Biological Conservation* 241:108355. doi.org/10.1016/j.biocon.2019.108355.

Ascoli-Morrete T., Signor E., Santos-Pereira M., Zanella N. 2019. Morphological abnormalities in anurans from southern Brazil. *Austral Ecology* 44:1025–1029. doi.org/10.1111/aec.12769.

Blaustein A.R., Wake D.B. 1990. Declining amphibian populations: a global phenomenon? *Trends in Ecology & Evolution* 5:203–204. doi.org/10.1016/0169-5347(90)90129-2.

Blotto B.L., Pereyra M.O., Grant T., Faivovich J. 2020. Hand and foot musculature of Anura: structure, homology, terminology, and synapomorphies for major clades. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 443:1–156. doi.org/10.1206/0003-0090.443.1.1.

Borkin L.J., Bezman-Moseyko O.S., Litvinchuk S.N. 2012. Evaluation of animal deformity occurrence in natural populations (an example of amphibians). *Proceedings of the Zoological Institute RAS* 316:324–343. doi.org/10.31610/trudyzin/2012.316.4.324.

Bosch R.A., Marrero A.H., Echevarría J.L.L., Estrada I.H., Castilho L.G., Quintana A.D.T. 2021. Limb abnormalities in *Peltophryne florentinoi*. (Anu-

ra: Bufonidae) from Cuba. *Phyllomedusa* 20:117–123. doi: http://dx.doi.org/10.11606/.

Carmo L.F., Guimarães S.O., Miguel I.R., Pinna P.H., Fernamdes D.S., Woitovicz-Cardoso M. 2021. High prevalence of anomalies in *Nyctimantis brunoi* (Anura: Hylidae) from a restinga protected area in southeastern Brazil. *Phyllomedusa* 20:165–179. doi: http://dx.doi.org/10.11606/.

Cuzziol-Boccioni A.P., Peltzer P.M., Martinuzzi C.S., Attademo A.M., León E.J. Lajmanovich R.C. 2020. Morphological and histological abnormalities of the neotropical toad, *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) larvae exposed to dexamethasone. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 56:1–13. doi.org/10.1080/03601234.2020.1832410.

D'Ávila R.S., Brum B.R., Hurtado T.C., Ignácio A.R.A. 2020. Temporal quantitative analysis on the effects of agricultural use on amphibians – anuran. *Research, Society and Development* 9:2525–3409. doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5682.

Fabrezi, M. 1993. The anuran tarsus. *Alytes* 11:47–63.

Fabrezi M., Alberch P. 1996. The carpal elements of anurans. *Herpetologica* 52:188–204.

Ferrante L., Fearnside P.M. 2020. Evidence of mutagenic and lethal effects of herbicides on Amazonian frogs. *Acta Amazonica* 50:363–366. doi.org/10.1590/1809-4392202000562.

De Superville D. 1739. Some Reflections on Generation, and on Monsters, With a Description of Some Particular Monsters *Philosophical Transactions* 41:294–307. https://doi.org/10.1098/rstl.1739.0044.

Ferrante L., Fearnside P.M. 2020. Evidence of mutagenic and lethal effects of herbicides on Amazonian frogs. *Acta Amazonica* 50:363–366. doi.org/10.1590/1809-4392202000562.

Haschek W.M., Rousseaux C.G., Wallig M. A., Bolon B., Ochoa R. 2013. *Haschek and Rousseaux's handbook of toxicologic pathology*. Academic Press, Massachusetts.

Henle K., Dubois A., Vershinin V. 2017a. A review of anomalies in natural populations of amphibians and their potential causes. *Mertensiella* 25:57–164.

Henle K., Dubois A., Vershinin V. 2017b. Commented glossary, terminology and synonymies of anomalies

in natural populations of amphibians. *Mertensiella* 25:9–48.

Johnson P.T., Chase J.M. 2004. Parasites in the food web: linking amphibian malformations and aquatic eutrophication. *Ecology Letters* 7:521–526. doi:*10.1111/j.1461-0248.2004.00610.x*

Johnson P.T.J, Lunde K.B., Thurman M., Ritchie E.G.,Wray S.N., Sutherland D.R., ... Blaustein A.R. 2002. Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the western United States. *Ecological Monographs* 72:151–168. *doi.org/10.1890/0012-9615(2002)072[0151:PROIL-T]2.0.CO;2*.

Kaiser J. 1997. Deformed frogs leap into spotlight at health workshop. *Science* 278:2051-2052. doi: *10.1126/science.278.5346.2051*.

Kalter H. 2003. Teratology in the 20th century Environmental causes of congenital malformations in humans and how they were established. *Neurotoxicology and Teratology* 25:131–282. doi:*10.1016/B978-044451364-9/50009-7*.

Ko S.K. 2020. Effects of pesticides (Benomyl, Carbofuran, Thiobencarb) on the Asian toad (*Bufo gargarizans*) embryo development. *Korean Journal of Environment and Ecology* 34:207–215. *doi.org/10.13047/KJEE.2020.34.3.207*.

Kovalenko E.E., Kovalenko Y.I. 1996. Certain pelvic and sacral anomalies in anura. *Russian Journal of Herpetology* 3:172–177.

Kovalenko E.E., Kruzhkova Y.I. 2013. Individual variation of the common toad, *Bufo bufo* (Anura, Bufonidae): 2. Diagnostic characters of the axial skeleton. *Russian Journal of Developmental Biology* 44:180–193. *doi.org/10.1134/S1062360413040048*

Lannoo M. 2008. Malformed frogs: the collapse of aquatic ecosystems. University of California Press, Berkeley.

Lannoo M.J. 2009. Amphibian malformations. Pp. 3089-3144, in Heatwole H., Wilkinson J.W. (Eds.), Amphibian Biology, vol. 8. Surrey Beatty & Sons. Baulkham Hills.

Lichtenstein H. 1823. Verzeichniss der Doubletten des zoologischen Museums der Königl. Universität zu Berlin nebst Beschreibung vieler bisher unbekannter Arten von Säugethieren, Vögeln, Amphibien und Fischen. T. Trautwein. Berlin.

Lutz A. 1924. Sur les rainettes des environs de Rio de Janeiro. Comptes Rendus et Mémoires Hebdomadaires des

Séances de la Société de Biologie et des ses Filiales. Paris 90:241.

Martínez M.M., Botero V.S. 2019. An alarm case? Hindlimb malformation in the endemic Colombian glass frog, *Sachatamia punctulata* (Anura, Centrolenidae). *Herpetology Notes* 12:919–921.

Meteyer C.U. 2000. Field guide to malformations of frogs and toads with radiographic interpretations. *Biological Science Report* USGS/BRD/BSR-2000-0005.

Meteyer C.U., Cole R.A., Converse K.A., Docherty D.E., Wolcott M., Helgen J.C., .. Burkhart J.G. 2000. Defining anuran malformations in the context of a developmental problem. *The Journal of the Iwoa Academy of Science* 107:72–78.

Netto A.L.C. 2005. A interface florestal-urbana e os desastres naturais relacionados à água no maciço da tijuca: desafios ao planejamento urbano numa perspectiva sócio-ambiental. *Revista do Departamento de Geografia* 16:46–60. doi.org/10.7154/RDG.2005.0016.0005

Ouellet, M., Bonin, J., Rodrigues, J., Desgranges, J. & Lair, S. 1997. Hind limb deformities (Ectromelia, Ectrodactyly) in free-living anurans from agricultural habitats. *Journal of Wildlife Diseases* 33:95–104. doi: 10.7589/0090-3558-33.1.95

Ouellet M. 2000. Amphibian deformities: current stage of knowledge. Pp. 617–661, in: Sparling D.W., Linder G., Bishop C.A. (Eds.). Ecotoxology of amphibians and reptiles. SETAC Technical Publications Series, Society of Environmental Toxicoly and Chemistry, Pensacola.

Pedroso-Santos F., Sanches P.R., Sousa J.C., Costa-Campos E. 2020. Anomalies in amphibians from the eastern Amazon region. *The Herpetological Bulletin* 153:22–25. doi.org/10.33256/hb153.2225

Peloso P.L. 2016. Osteological malformation in the tree frog *Hypsiboas geographicus* (Anura: Hylidae). *Phyllomedusa* 15:91–93. doi: http://dx.doi.org/10.11606/

Peltzer P.M., Lajmanovich R.C., Sanchez L.C., Attademo A.M., Junges C.M., Bionda C.L., ... Basso, A. 2011. Morphological abnormalities in amphibian populations. *Herpetological Conservation and Biology* 6:432–442.

Portela A.A.B, Santos T.G., Anjos L.A. 2020. Changes in land use affect anuran helminths in the South Brazilian grasslands. *Journal of Helminthology* 94:1–

11. doi: http://dx.doi.org/10.1017/S0022149X20000905

Price E. W. 1931. Four new species of trematode worms from the muskrat, *Ondatra zibethica*, with a key to the trematode parasites of the muskrat. *Proceedings of the United States National Museum* 79:1–13. doi: doi.org/10.5479/si.00963801.79-2870.1

Rebouças R., Silva H.R., Solé M. 2019. Malformations in insular and coastal populations of toads in Rio de Janeiro, Southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology* 14:12–18. doi: http://dx.doi.org/10.2994/SAJH-D-17-00031.1

Reeves M.K., Medley K.A., Pinkney A.E., Johnson P.T.J., Lannoo M.J. 2013. Localized hotspots drive continental geography of abnormal amphibians on U.S. wildlife refuges. *Plos One* 8:1–14. doi: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0077467

Shin Y., Jang Y., Borzee A. 2020. Limb malformations in *Bombina orientalis* (Anura: Bombinatoridae) in the Republic of Korea based on museum specimens. *Herpetology Notes* 13:29–31.

Silva M.B., Fraga R.E., Nishiyama P.B., Silva I.S.S., Costa N.L.B., Oliveira L.A.A., ... Juncá F.A. 2020. Leukocyte profiles in *Odontophrynus carvalhoi* (Amphibia: Odontophrynidae) tadpoles exposed to organophosphate chlorpyrifos pesticides. *Water Air Soil Pollut* 231:372. doi: http://dx.doi.org/10.1007/s11270-020-04726-4

Silva-Soares T., Mônico A.T. 2017. Hind limb malformation in the tree frog *Corythomantis greeningi* (Anura: Hylidae). *Phyllomedusa* 16:117–220. doi: http://dx.doi.org/10.11606

Spix J. B. von. 1824. Animalia nova sive Species novae Testudinum et Ranarum quas in itinere per Brasiliam annis MDCCCXVII–MDCCCXX jussu et auspiciis Maximiliani Josephi I. Bavariae Regis. F. S. Hübschmann. Munique.

Steindachner F. 1864. Batrachologische Mittheilungen. Verhandlungen des Zoologisch-Botanischen Vereins in Wien 14:239–288.

Steindachner, F. 1867. Reise der österreichischen Fregatte Novara um die Erde in den Jahren 1857, 1858, 1859 unter den Befehlen des Commodore B. von Wüllerstorf-Urbair. Pt. 9, Bd. 1, Abt. 4, Zoologischer Theil. Amphibien. K. K. Hof- und Staatsdruckerei. Viena.

Svinin A.O., Bashinskiy I.V., Litvinchuk S.N, Ermakov O.A., Ivanov A.Y, Neymark L.A., ... Dubois A. 2020. *Strigea robusta* causes polydactyly and severe forms of Rostand's anomaly P in

water frogs. *Parasites & Vectors* 1:381. doi: https://doi.org/10.1186/s13071-020-04256-2

Toledo L.F., Ribeiro R.S. 2009. The Archipelago of Fernando de Noronha: an intriguing malformed toad hotspot in South America. *EcoHealth* 6:351–357. 10.1007/s10393-010-0277-2

Tolledo J., Toledo L.F. 2015. Blind toads in paradise: the cascading effect of vision loss on a tropical archipelago. *Journal of Zoology* 296:167–176. https://doi.org/10.1111/jzo.12233

Yu S., Wages M.R., Cai Q., Maul J.D., Cobb, G.P. 2013. Lethal and sublethal effects of three insecticides on two developmental stages of *Xenopus laevis* and comparison with other amphibians. *Environmental toxicology and chemistry* 32:2056–2064. doi: 10.1002/etc.2280.

Editora: *Ariadne F. Sabbag*

Apêndice: *Adenomera marmorata:* CFBH 34401–04, 34406; MNRJ 27652–53, 39081, 39396, 49316, 49319, 49370–75, 49377–90, 49392–95, 49398–434, 49773–75, 51901, 53817, 53818–20, 54081, 54089, 55684, 58132–42, 60686, 64735–45, 64755–60, 64771–72, 66369, 66371–73, 71634, 74808–11, 78130–33, 84897, 93097; ZUFRJ: 25–26, 478, 641–50, 654–57, 739, 2061, 2347, 3335, 3770, 6149, 6234, 14936. *Aplastodiscus albofretanus:* CFBH 39362; MNRJ 3558, 15595, 16065, 16806, 23473, 27709, 34767–68, 36924–25, 36927–28, 39030–32, 40781, 40800, 41686, 43060–61, 43510–16, 48029, 48031–32, 48034, 48043–48, 50622–23, 53390, 74075–76, 77345–47, 78464, 91903–04, 93090–92, 93100–04; ZUFRJ 68, 88, 92–94, 658–64, 666, 668, 670–75, 678–79, 6331–32, 6334–35, 6347–48, 6789, 6917–22, 6927, 7049, 8307, 15939, 16063, 16203. *Brachycephalus ephippium* MNRJ 1757, 1870, 3327, 3558, 9388–416, 10205, 10215, 13818–19, 15332, 17431, 17451, 17453, 25346, 25368–71, 25379, 25408–09, 25412–14, 27570, 27577–79, 30920, 40783–89, 40791–94, 40797–99, 40801, 40804, 88230–31; ZUFRJ: 15187–94, 15200–04, 15439–40. *Hylodes nasus:* CFBH 280, 42227–29; MNRJ 0088, 0640, 1445, 1849, 1856, 1860, 1864, 1866, 1869, 2673, 10190–91, 10193–96, 10200, 10204, 10207–08, 10212–14, 13698–99, 18478–80, 18482, 26894–98, 29210, 30332, 31853–59, 31861–62, 31875–78, 31880–81, 31883–85, 31888, 31894–911, 31938–40, 32075, 32079–85, 32743, 33050–51, 33398, 33743, 34198–201, 34203–06, 34282, 35113, 37037, 38937, 40550, 41896–97, 41903–04, 41906–10, 42277–78, 49778, 58817, 68309–11, 74905–06, 77338–77339, 80824, 81902, 93094–95, 93107–10; ZUFRJ 16, 24, 95, 106–15, 245, 6235–42, 6246–52, 6741,

8305, 11249, 11415–17, 11439, 15198, 16064–66. *Ischnocnema guentheri:* CFBH 27447, 34396–97, 42226, 42230; MNRJ 140, 589, 630, 1053, 1842–43, 1847, 1854, 1977, 2021, 2261, 2327, 2686, 10199, 10455, 10524, 10961, 11081, 12383–84, 27642–43, 31053, 31665–66, 31668, 31976, 32438, 35506, 35508–13, 36482–83, 39044, 45326, 47174–76, 48237–42, 48628, 74086–87, 78448–50, 79111, 81774, 87540–42, 87544–48, 91897; ZUFRJ: 133–39, 140–47, 622–29, 631–34, 1445, 2062, 6739, 15149.

Tabela 1: Malformações do esqueleto axial registradas no estudo onde n = número de indivíduos afetados por cada tipo de malformação; espécies para as quais determinado tipo de malformação foi registrada.

Malformação	**n**	**Espécies**
Síndrome de distúrbio de segmentação	1	*Aplastodiscus albofrenatus* (Fig. 1)
Síndrome de assimetria crescente	2	*Aplastodiscus albofrenatus* (Fig. 1); *Hylodes nasus* (Fig. 2B).
Escoliose	2	*Aplastodiscus albofrenatus* (Fig. 1); *Hylodes nasus* (Fig. 2A).
Assimetria do sacro	4	*Aplastodiscus albofrenatus* (Figs. 2C e 2D); *Hylodes nasus* (Figs. 2A e 2B).
Processo transverso adicional	2	*Brachycephalus ephippium* (Fig. 3A); *Ischnocnema guentheri* (Fig. 3B).
Número aumentado de diapófises sacrais	2	*Adenomera marmorata* (Figs. 4A e 4B).
Vértebra pós-sacral	2	*Aplastodiscus albofrenatus* (Fig. 5B); *Hylodes nasus* (Fig. 5A).

Tabela 2: Malformações do esqueleto apendicular registradas no estudo onde n = número de indivíduos afetados por cada tipo de malformação; espécies para as quais determinado tipo de malformação foi registrada.

Malformação	**n**	**Espécies**
Cintura pélvica incompleta	1	*Aplastodiscus albofrenatus* (Fig. 6).
Amelia	1	*Hylodes nasus* (Fig. 7).
Ectromelia	1	*Hylodes nasus* (Fig. 8).
Braquidactilia: Falange curva	3	*Hylodes nasus* (Fig. 9).
Braquidactilia: Braquifalangia		*Hylodes nasus* (Fig. 10 e 12).
Anormalidade tarsália	2	*Brachycephalus ephippium* (Fig. 11); *Hylodes nasus* (Fig. 12).
Polifalangia	1	*Adenomera marmorata* (Fig. 13).
Polipodia	1	*Aplastodiscus albofrenatus* (Fig. 14).



Figura 1. Síndrome de distúrbio de segmentação, síndrome de assimetria crescente e escoliose. Radiografia, em vista dorsal, de *Aplastodiscus albofrenatus*, MNRJ 48044 (CRC 36,4 mm).

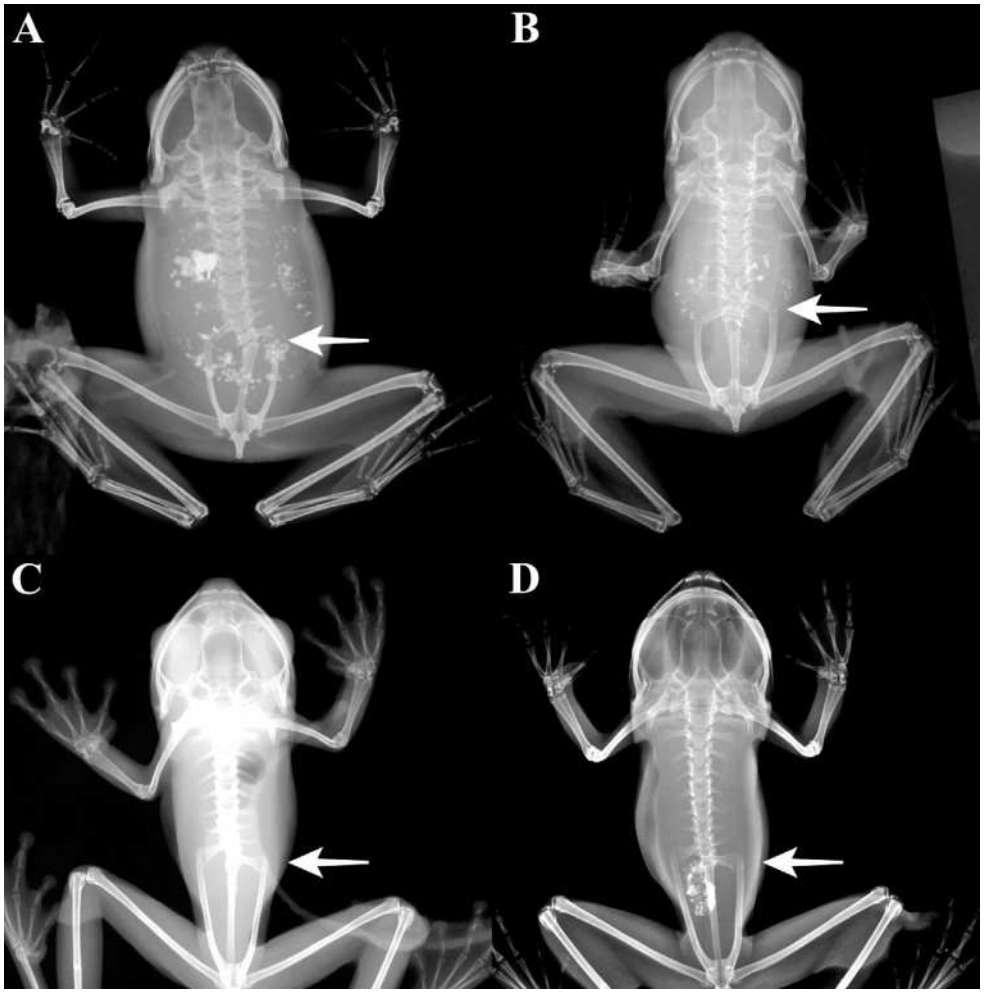


Figura 2. Assimetria do sacro. Radiografias, em vistas dorsais, de *Hylodes nasus* (A) MNRJ 31898 (CRC 31,4 mm) e (B) ZUFRJ 109 (CRC 28,4 mm); e (C) *Aplastodiscus albofrenatus*, ZUFRJ 6920 (CRC 37,5 mm) e (D) ZUFRJ 6921 (CRC 39,3 mm).

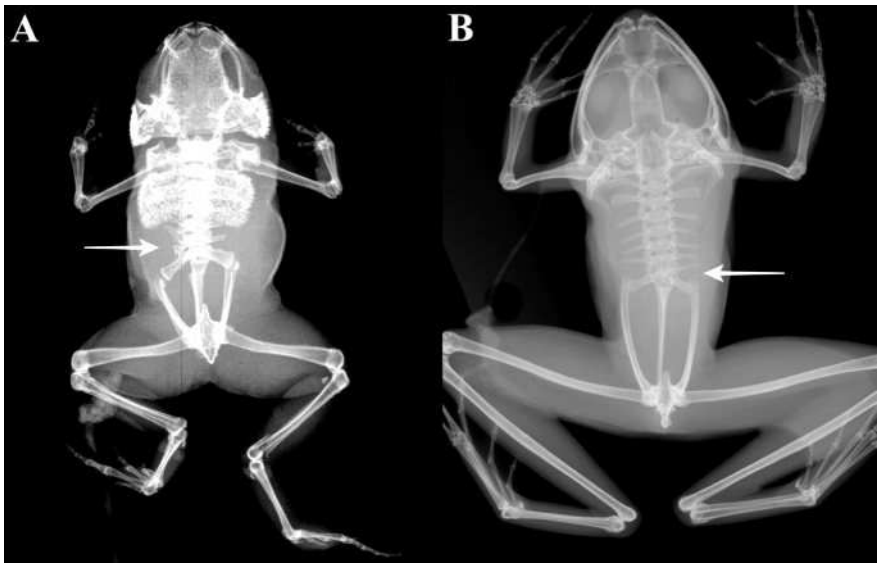


Figura 3. Processo transverso adicional, com deslocamento da orientação das diapófises sacrais. Radiografias, em vistas dorsais, de (A) *Brachycephalus ephippium*, MNRJ 40785 (CRC 16,2 mm); (B) *Ischnocnema guentheri*, MNRJ 45326 (CRC 33,2 mm).

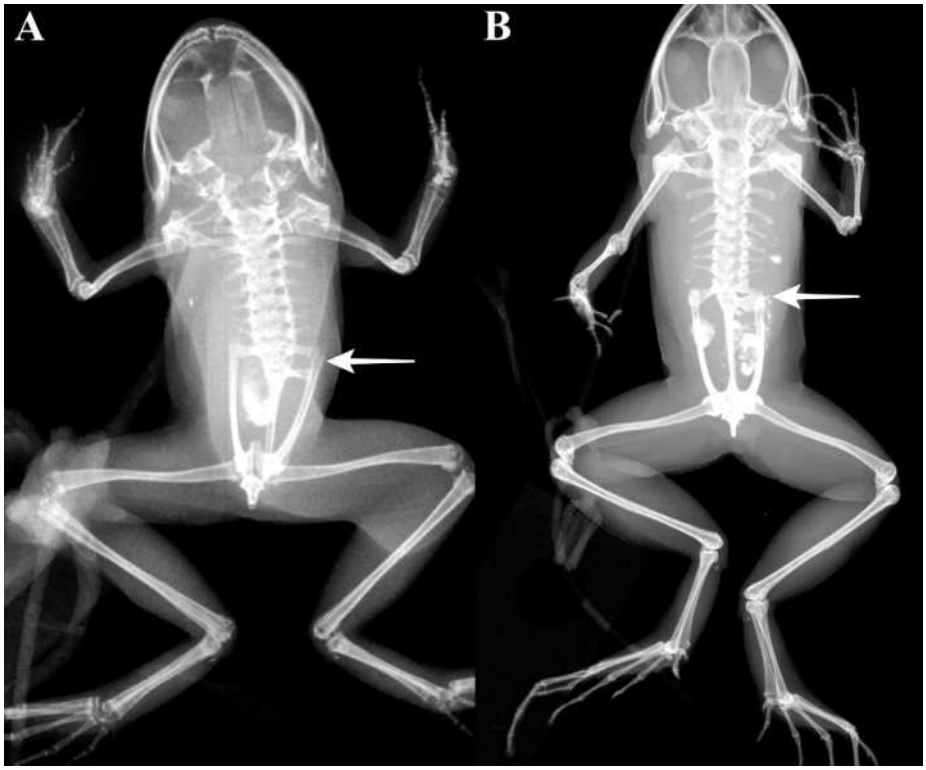


Figura 4. Número aumentado de diapófises sacrais, com diapófises adicionais na região anterior do uróstilo. Radiografias, em vistas dorsais, de *Adenomera marmorata* (A) MNRJ 49400 (CRC 15,0 mm) e (B) MNRJ 64735 (CRC 21,5 mm).

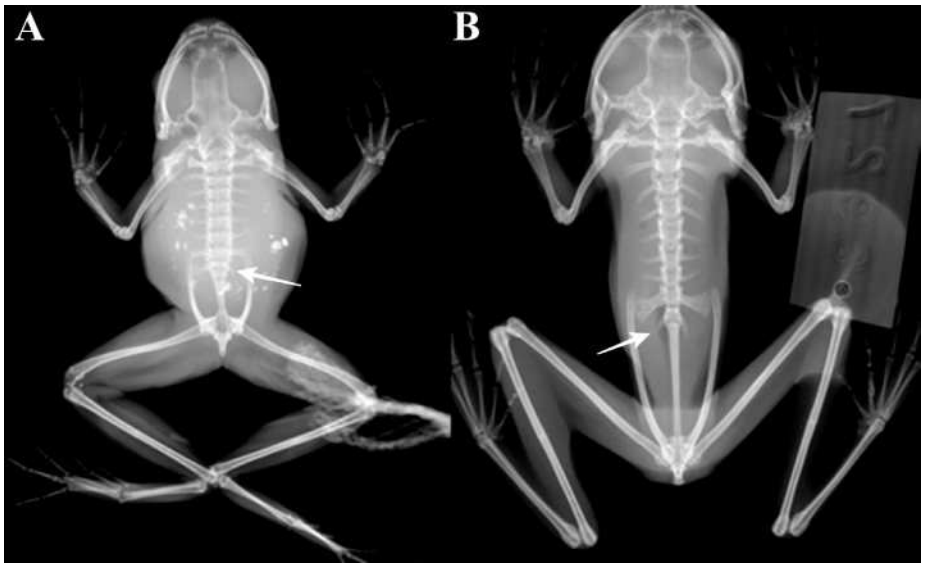


Figura 5. Presença de vértebra pós-sacral. Radiografias de (A) *Hylodes nasus*, MNRJ 18478 (CRC 34,0 mm); (B) *Aplastodiscus albofrenatus*, ZUFRJ 6927 (CRC 43,2 mm).

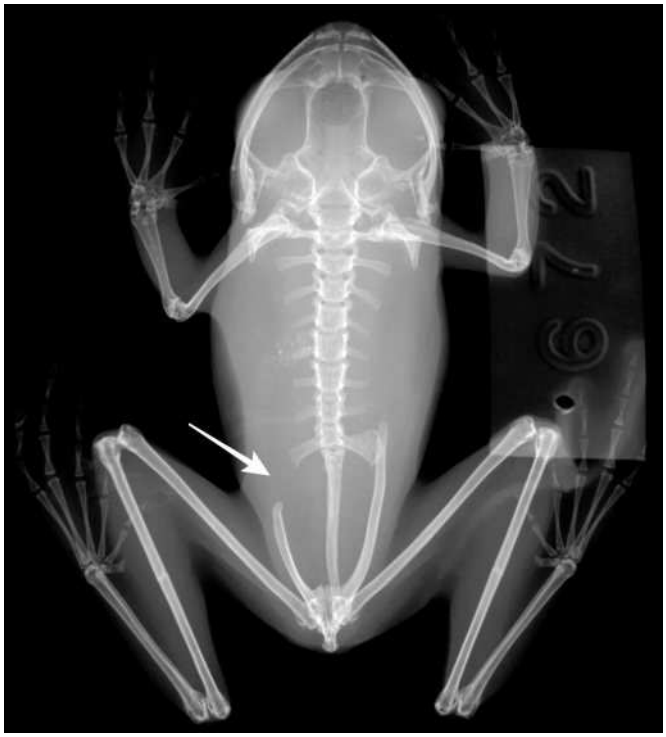


Figura 6. Cintura pélvica incompleta. Radiografia, em vista dorsal, de *Aplastodiscus albofrenatus*, ZUFRJ 672 (CRC 37,0 mm).



Figura 6. Cintura pélvica incompleta. Radiografia, em vista dorsal, de *Aplastodiscus albofrenatus*, ZUFRJ 672 (CRC 37,0 mm).



Figura 7. Amelia em apêndice posterior direito. Radiografia, em vista dorsal, de *Hylodes nasus*, MNRJ 31908 (CRC 26,3 mm).



Figura 8. Ectromelia, apêndice pélvico esquerdo. Radiografia, em vista dorsal, de *Hylodes nasus*, MNRJ 32075 (CRC 32,0 mm).



Figura 9. Braquidactilia, subclassificação Falange curva, falange basal do dedo III curva e encurtamento do metacarpal III, ambos na mão direita. Radiografia, em vista dorsal, de *Hylodes nasus*, MNRJ 40550 (CRC 35,3 mm).



Figura 10. Braquidactilia, subclassificação Braquifalangia, encurtamento da falange distal do dedo III da mão esquerda. Radiografia, em vista dorsal de *Hylodes nasus*, MNRJ 31907 (CRC 28,1 mm).



Figura 11. Anormalidade tarsália, apêndice pélvico esquerdo. Radiografia, vista dorsal, de *Brachycephalus ephippium*, MNRJ 9391 (CRC 17,4 mm).



Figura 12. Anormalidade tarsália e Braquidactilia, apêndice pélvico esquerdo. Radiografia, vista dorsal, de *Hylodes nasus*, MNRJ 34200 (CRC 36,9 mm).



Figura 13. Polifalangia, artelho IV do pé direito. Radiografia, em vista dorsal, de *Adenomera marmorata*, MNRJ 53817 (CRC 22,5 mm).



Figura 14. Polimelia, subclassificação Polipodia; apêndice pélvico esquerdo. Radiografia, vista dorsal, de *Aplastodiscus albofrenatus*, ZUFRJ 678 (CRC 39,8 mm).