

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 30/04/2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Lucas Rodrigo dos Santos

Estudo do complexo de espécies *Scinax hayii* (Barbour, 1909) e *Scinax dolloi*
(Werner, 1903) (Anura, Hylidae) ao longo da Mata Atlântica, Brasil

São José do Rio Preto

2020

Lucas Rodrigo dos Santos

Estudo do complexo de espécies *Scinax hayii* (Barbour, 1909) e *Scinax dolloi*
(Werner, 1903) (Anura, Hylidae) ao longo da Mata Atlântica, Brasil

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Itamar Alves Martins

São José do Rio Preto

2020

S237e

Santos, Lucas Rodrigo dos

Estudo do complexo de espécies *Scinax hayii* (Barbour, 1909) e *Scinax dolloi* (Werner, 1903) (Anura, Hylidae) ao longo da Mata Atlântica, Brasil / Lucas Rodrigo dos Santos. -- São José do Rio Preto, 2020

168 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Itamar Alves Martins

1. Anuros. 2. Taxonomia. 3. Morfometria. 4. Bioacústica. 5. Gene COI. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Lucas Rodrigo dos Santos

Estudo do complexo de espécies *Scinax hayii* (Barbour, 1909) e *Scinax dolloi*
(Werner, 1903) (Anura, Hylidae) ao longo da Mata Atlântica, Brasil

Tese apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em Biologia Animal, junto
ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal,
do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Itamar Alves Martins

Departamento de Biologia/ Universidade de Taubaté

Orientador

Prof(a). Dr(a). Délio Pontes Baêta da Costa

Departamento de Vertebrados/Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof(a). Dr(a). Luciana Barreto Nascimento

Departamento de Ciências Biológicas/Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

Prof(a). Dr(a). Renato Neves Feio

Departamento de Biologia Animal/Universidade Federal de Viçosa

Prof(a). Dr(a). Renato Christensen Nali

Departamento de Zoologia/Universidade Federal de Juiz de Fora

Taubaté

30 de abril de 2020

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Itamar Alves Martins pela minha formação profissional. Por toda sua amizade e atenção nesses 11 anos de convivência no Laboratório de zoologia da Universidade de Taubaté. Agradeço pelas lições de vida, por me animar todas as vezes que o caminho parecia estar difícil e por ser exemplo de pessoa e profissional.

À minha esposa e companheira Tatiana Santos por todo cuidado e carinho; por sempre se fazer presente e compreender minha ausência.

Aos meus pais João e Eliana pelo tempo cedido à minha criação e por acreditarem em mim em todos os momentos.

À professora Dra. Mariana L. Lyra pela recepção, ensinamentos e toda ajuda com as análises moleculares executadas no projeto.

Ao Instituto Básico de Biociências da Universidade de Taubaté e ao Laboratório de Zoologia por toda estrutura cedida para a realização do projeto.

Aos professores Dr. Valter Cobo e Dra. Cecília Toledo pela contribuição e sugestões no exame de qualificação.

Aos colegas do Laboratório de Zoologia (Guilherme, Nicolas, Leonardo, Juliano, Lu, Maysa, Paulo, Lucas e Du) pela ajuda em coletas, em laboratório e pelas discussões sobre ciências e o cotidiano.

Aos professores Valter Cobo e Marisa Cardoso pelos ensinamentos e convivência no Laboratório de Zoologia da UNITAU.

Ao Ibilce e aos funcionários da Seção de Pós-graduação pela sua eficiência e prontidão para esclarecimentos e ajuda nos trâmites.

À Carol Manzano pelos cantos cedidos de *Scinax* da população da Serra do Japi.

Aos professores Dr. Célio F. B. Haddad, Dr. José P. Pombal Jr. pelo empréstimo de espécimes depositados nas coleções sob seus cuidados.

Ao professor Dr. Tiago S. Soares pela ajuda em campo no Espírito Santo e pelos exemplares cedidos de Santa Teresa.

Aos membros da comissão avaliadora de defesa que aceitaram contribuir para a versão final deste manuscrito.

Ao SISBIO pela licença de coleta concedida nº 55374-(1-5).

À FAPESP pelo fomento cedido ao projeto Número de Processo 2018/00694-6.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A escassez de informações, juntamente com a morfologia conservada, dificulta a caracterização e identificação de complexo de espécies do gênero *Scinax* como em *Scinax hayii* e *Scinax dolloi*. Este estudo utilizou a taxonomia integrativa, usando como base a morfologia, morfometria, bioacústica e análises moleculares do gene COI (DNA *Barcoding*) para investigar e caracterizar variações populacionais entre populações de *S. hayii* e *S. dolloi* amostradas na região sudeste do Brasil, nos domínios da Mata Atlântica, buscando elucidar possíveis problemas taxonômicos e determinar a distribuição de cada espécie. Análises do canto de anúncio em populações de *S. hayii* revela uma variação gradativa entre as populações da Serra do Mar e litoral tendo as populações do litoral paulista, canto distinto dos topótipos e de outras populações da Serra do Mar. As análises morfológicas e morfométricas aliadas ao gene COI, revelam que *S. hayii* possui estruturação geográfica e, apesar de possuir populações polimórficas, esse gene ao longo da distribuição de *S. hayii* tem características conservadas. Semelhanças nos parâmetros bioacústicos e moleculares mostram que a população de Castelo no Espírito Santo é similar a topótipos de *S. dolloi*. Diferenças no canto de anúncio, comprimento rostro-cloacal e no gene COI sugerem que populações localizadas no bloco sul da Serra da Mantiqueira representam uma nova espécie.

Palavras-chave: Scinaxinae; Taxonomia; Bioacústica; Morfometria; Gene COI.

ABSTRACT

Scarce information combined with conserved morphology hinder the characterization and identification of *Scinax* complex species, such as *S. hayii* and *S. dolloi*. We used integrative taxonomy, based on morphology, morphometry, bioacoustics and molecular analyzes (COI gene) in order to investigate and characterize population variations between *S. hayii* and *S. dolloi* populations, sampled in Southeastern Brazil, in the Forest Atlantic domains, seeking to elucidate possible taxonomic problems and also to determine the distribution of both species. Advertisement call analysis in *S. hayii* reveals a gradual variation between Serra do Mar mountains and litoral populations. Coastal populations have different calls compared to topotypes and other populations distributed in the mountains. Morphometric and morphological analyzes combined with COI gene reveal that *S. hayii* has a geographic structure, even having polymorphic populations, COI gene throughout the distribution of *S. hayii* shows conserved characteristics. Similarities in bioacoustic and molecular parameters show that Castelo's population in Espírito Santo state is similar to topotypes of *S. dolloi*. Differences in advertisement call, snout vent length and COI gene suggest that populations in the Southern Serra da Mantiqueira represent a new specie.

Keywords: Scinaxinae; Taxonomy; Bioacoustic; Morphometry; Gene COI.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1 – Populações amostradas de *Scinax hayii* e *Scinax dolloi* utilizadas na análise comparativa do canto de anúncio. Siglas dos estados brasileiros (UF): São Paulo (SP), Minas Gerais (MG), Rio de Janeiro (RJ) e Espírito Santo (ES). Populações amostradas: Castelo (CAS) no Espírito Santo. Na Serra do Mar: Petrópolis (PET) localidade tipo de *Scinax hayii*, Bananal (BAN), São Luiz do Paraitinga (SLP), Mogi das Cruzes (MOG), e São Bernardo do Campo (SBC). Populações litorâneas: Mangaratiba (MAN), Paraty (PAR), Ubatuba (UBA), Ilhabela (ILB) e Peruíbe (PER). Na Serra da Mantiqueira: Maringá (MAR) localidade tipo de *S. dolloi*, Itamonte (ITA), Campos do Jordão (CAJ), Santo Antonio do Pinhal (SAP), Camanducaia (CAM) e Jundiaí (JUN). 32

Figura 2 – Oscilograma (acima) e espectrograma (abaixo) do canto de anúncio de diferentes populações de *Scinax hayii*. Temperatura do ar no momento da gravação: Petrópolis (RJ) 17°C, Bananal (SP) 17°C, São Luiz do Paraitinga (SP) 18°C, Mangaratiba (RJ) 22°C, Paraty (RJ) 23°C, Ubatuba (SP) 28°C, Mogi dasCruzes (SP) 17°C, São Bernarndo do Campo (SP) 17°C, Ilhabela (SP) 21°C, Peruíbe (SP) 21°C, Castelo (ES) 19°C. 37

Figura 3 – Oscilograma (acima) e espectrograma (abaixo) do canto de anúncio de *Scinax dolloi* registrado em diferentes localidades. Temperatura do ar: Maringá (RJ) – localidade tipo – 17°C; Itamonte (MG) 12°C; Campos do Jordão (SP) 17°C; Santo Antônio do Pinhal (SP) 16°C; Camanducaia (MG) 17°C; Jundiaí (SP) 17°C. 38

Figura 4 – Análise de componentes principais utilizando os parâmetros bioacústicos frequência dominante, duração da nota, número de pulsos e taxa de repetição dos pulsos em onze populações de *Scinax hayii*. O componente principal 1 (eixo x) é responsável por 52,9% e o componente 2 (eixo y) 27,5% da variação entre as populações. 40

Figura 5 – Boxplot dos parâmetros acústicos (A) duração da nota (ms), (B) frequência dominante (Hz), (C) número de pulsos por nota e (D) taxa de repetição dos pulsos (pulsos por segundo) em populações de *Scinax hayii*. Box representam 1º e 3º quartis, linha central representa a mediana; linhas verticais representam valores de amplitude (mínimos e máximos) amostrados. Populações litorâneas estão destacadas com asterisco (*). 40

Figura 6 – Análise de componentes principais em populações de *Scinax dolloi* (Maringá, Itatiaia, RJ localidade tipo; Itamonte e Camanducaia no estado de Minas Gerais; Campos do Jordão, Santo Antônio do Pinhal, Jundiá e Bananal no estado de São Paulo; Castelo, Espírito Santo) utilizando os parâmetros bioacústicos frequência dominante, duração da nota, número de pulsos e taxa de repetição. O componente principal 1 representado no eixo x é responsável por 99,5% da variação encontrada, já o componente 2 (eixo y) representa 0,48% da variação encontrada. 46

Figura 7 – Boxplot dos parâmetros acústicos (A) frequência dominante (Hz= Hertz), (B) duração da nota (ms= milissegundos), (C) número de pulsos por nota e (D) taxa de repetição dos pulsos (pulsos/segundo) em populações de *Scinax dolloi* e *Scinax hayii* de Bananal (SP) e Castelo (ES). Box representam 1º e 3º quartis, linha central representa a mediana; linhas horizontais representam valores de amplitude amostrados (mínimos e máximos). 46

CAPÍTULO 2

Figura 1 – Distribuição geográfica das populações utilizadas nas análises morfométricas e morfológicas de *Scinax hayii* e *Scinax dolloi*. Populações amostradas no estado do Espírito Santo (ES): municípios de Castelo (CAS) e Santa Teresa (SAT); no estado do Rio de Janeiro (RJ): municípios Petrópolis (PET), Maringá, Itatiaia, (MAR), Itatiaia, Parque Nacional do Itatiaia parte baixa (IPB), Mangaratiba (MAN) e Paraty (PAR); no estado de Minas Gerais (MG): Itamonte (ITA), Cristina (CRI) e Camanducaia (CAM); no estado de São Paulo: municípios São Luiz do Paraitinga (SLP), Ubatuba (UBA), Ilhabela (ILB), Santa Isabel (SAI), Mogi das Cruzes (MOG), Santo André (SAA), São Bernardo do Campo (SBC), Jujutiba (JUQ), Peruíbe (PER), Queluz (QUE), Piquete (PIQ), Campos do Jordão (CAJ) e Santo Antonio do Pinhal (SAP). 66

Figura 2 – Caracteres morfométricos analisados. (A) vista dorsal, comprimento rostro-cloacal (CRC) e comprimento da cabeça (CC); (B) vista ventral, largura da cabeça (LC), comprimento do braço (CB), comprimento do antebraço (CAB), comprimento da mão (CM), diâmetro do disco adesivo do dedo 3 da mão (DD3), comprimento do fêmur, comprimento da tíbia (CT), comprimento do tarso (CTAR), comprimento do pé (CP) diâmetro do disco adesivo do dedo 4 do pé (DD4); (C) vista dorsal da cabeça, distância interorbital (DIO), distância inter-nasal

(DIN), distância narina-focinho (DNF); (D) vista lateral da cabeça, diâmetro do olho (DO), diâmetro do tímpano (DT), distância olho-narina (DON). Adaptado de Pugliese (2002). 67

Figura 3 – Machos *Scinax hayii* coletados em Petrópolis, Rio de Janeiro (localidade tipo) exemplares CFBH 13935 (A – E; CRC= 42,5 mm) e CCLZU 3179 (G e H; CRC= 41,3 mm). Vista lateral (A), vista ventral da mão (B), vista ventral do pé (C), vista dorsal (D), vista ventral (E), vista dorsal mostrando coloração na face posterior das coxas (F e G), vista lateral do indivíduo (H). De A a F indivíduos fixados; em G e H animal em vida. 75

Figura 4 – Macho de *S. hayii* (CCLZU 3166, CRC= 41,3 mm, fotos A, B, C, E e F) coletado em São Luiz do Paraitinga, São Paulo. Vistas da lateral da cabeça (A), mão (B), pé (C), região lateral e ventral evidenciando as manchas nos flancos (D), vista dorsal (E), ventral (F), vista dorsal evidenciando a face posterior das coxas com manchas típicas de *Scinax* (G) vista lateral do indivíduo (H). Exemplares não coletados nas imagens D, G e H. 80

Figura 5 – Macho de *Scinax hayii* coletado em Mangaratiba, Rio de Janeiro (CCLZU 3466, CRC= 42,1 mm). Vistas da lateral da cabeça (A), mão (B), pé (C), região lateral evidenciando as manchas nos flancos (D), vista dorsal (E), ventral (F), vista dorsal evidenciando a face posterior das coxas com manchas típicas de *Scinax* (G) vista dorsal do indivíduo (H). 81

Figura 6 – Machos de *Scinax hayii* coletados em Mogi das Cruzes, São Paulo, apresentando padrão de coloração dorsal com faixas e manchas (CCLZU 3429, CRC= 35,9 mm; imagens A, B e E; e CCLZU 3430, CRC= 39,4 mm, imagens C e D). Vistas lateral do corpo (A), ventral (B), dorsal (C), face posterior da coxa (D), e vista dorsal (E). 82

Figura 7 – Macho de *Scinax hayii* coletado em São Bernardo do Campo, São Paulo. Indivíduo com padrão de manchas no dorso (CCLZU 3425, CRC= 37,2 mm). Vista lateral (A), ventral (B), dorsal (C e E), face posterior da coxa (D). Imagem D indivíduo não coletado. 83

Figura 8 – Padrões de manchas na superfície dorsal, e na face posterior da coxa registrados em machos de *Scinax hayii*, nas populações de Santa Isabel (A) (da esquerda para a direita: CCLZU 3301, CRC= 36,2 mm; CFBH 40168, CRC= 36,9; CFBH 40169, CRC= 38,3 mm), Santo André (B) (da esquerda para a direita: CFBH 29303, CRC= 37,3 mm; CFBH 29304, CRC= 34,4 mm; CFBH 29308, CRC= 39,1) e Juquitiba (C) (da esquerda para a direita: CCLZU 3314, CRC= 38,4 mm; CCLZU 3317, CRC= 37,8; CCLZU 3318, CRC= 39 mm) no estado de São Paulo. 84

Figura 9 – Padrão de coloração dorsal uniforme e manchas em regiões escondidas (fêmur, tíbias e flancos) em exemplares de *Scinax hayii* coletados na planície litorânea em (A) Paraty, RJ (CCLZU 3407, CRC= 35,7 mm), (B) Ubatuba, SP, (CCLZU 3185, CRC= 38,5 mm), e (C) Ilhabela, SP (CCLZU 3331, CRC= 36,9 mm). 85

Figura 10 – Machos de *Scinax hayii* coletados em Peruíbe, São Paulo (A, B e F CCLZU 3241, CRC= 36,8 mm; C, D e E CCLZU 3239, CRC= 37,9 mm). Vista lateral evidenciando o padrão de coloração dorsal com manchas (A e B), padrão de coloração na região posterior da coxa (C e D), vista ventral (E), vista lateral evidenciando padrão de coloração com manchas na região dos flancos. 86

Figura 11 – Machos *Scinax hayii* registrados em Castelo, Espírito Santo. Vista lateral evidenciando a coloração dos flancos (A), vista lateral superior (B), vista ventral (C), face posterior da coxa evidenciando a ausência do padrão de manchas reticulares típicas de *Scinax* (D, E e F), e vista lateral de espécime apresentando padrão de coloração dorsal com manchas (G). Imagens A, C, F e G exemplar CCLZU 3422 (CRC= 34,3 mm), B e E CCLZU 3419 (CRC= 35,4 mm), em D CCLZU 3421 (CRC= 33,3). 87

Figura 12 – Caracteres selecionados para a análise de componentes principais e seus valores de importância para o componente principal 1. O comprimento rostro-cloacal é o principal parâmetro responsável pela variação populacional em morfometria nas populações de *Scinax hayii* (73% de influência sobre o componente principal 1). 89

Figura 13 – Análise de componentes principais utilizando 6 caracteres morfométricos e 14 populações de *Scinax hayii*. O componente principal 1 é responsável por 86,8% da variação encontrada, já o componente principal 2 (eixo y) corresponde a 5,6%. Os caracteres representados por eixos na figura (biplot) são: (CRC) comprimento rostro-cloacal, (CT) comprimento da tíbia, (CF) comprimento do fêmur, (CP) comprimento do pé, (LC) largura da cabeça e (CC) comprimento da cabeça. 91

Figura 14 – *Box e jitter plot* utilizando o caractere comprimento rostro-cloacal (CRC) medido em milímetros (mm), em populações de *Scinax hayii*. *Box* representam o primeiro e terceiro quartil, linha central representa a mediana; linhas verticais representam a amplitude. Pontos representam valores de cada indivíduo amostrado. 92

Figura 15 – Macho de *Scinax dolloi* coletado em Maringá, Itatiaia, Rio de Janeiro (A – E CCLZU 3288, CRC= 35,3 mm; indivíduo não coletado em F; em G CCLZU 3286, CRC= 33,6

mm) . Vistas lateral da cabeça (A), pé (B), mão (C); vistas dorsal (D, F e G) e ventral (E).
Animal fixado de A até E. 101

Figura 16 – Padrões de coloração dorsal em machos de *Scinax dolloi*. Exemplares coletados no Brejo da Lapa, Itamonte, MG. (A) vista dorsal (CFBH 40171, CRC= 38,6 mm), (B) vista lateral evidenciando padrão e coloração e aspecto granular do dorso (CFBH 40173, CRC= 33,9 mm) (C) vista posterior evidenciando padrão de coloração na face posterior do fêmur e flancos; Imagens D – F, espécimes coletados em Cristina, MG. CCLZU 2231, CRC= 34,8 mm (D), CCLZU 2119, CRC= 38,2 mm (E), CCLZU 2956, CRC= 39,4 mm (F); Exemplares coletados em Piquete, CCLZU 2795, CRC= 38 mm (G), CCLZU 2881, CRC= 39,3 mm (H), CCLZU 2882, CRC= 39,6 mm (I). De A a C animais em vida, de D a I animais fixados. 107

Figura 17 – Padrão de coloração dorsal em machos fixados de *Scinax dolloi*. Indivíduos com padrão vestigial para padrão evidente (da esquerda para a direita). Itatiaia (parte baixa): CCLZU 2726, CRC= 39 mm (A), CCLZU 2724, CRC= 37 mm (B), CCLZU 2687, CRC= 34,6 mm (C); Queluz: CCLZU 1328, CRC= 39,7 mm (D), CCLZU 1727, CRC= 39,5 mm (E); Santo Antônio do Pinhal: CCLZU 3181, CRC= 38,5 mm (F), CCLZU 1107, CRC= 37,7 mm (G), CCLZU 3180, CRC= 38,6 mm (H). 108

Figura 18 – Padrão de manchas na superfície dorsal de *Scinax dolloi* de Campos do Jordão (A – C) e Camanducaia (G – I). Padrão de coloração na face posterior da coxa vestigial, ou pouco evidente em Campos do Jordão (D) e Camanducaia (E e F). CCLZU 2334 (fêmea), CRC= 40,2 mm (A), CFBH 40180, CRC= 38,5 mm (B), CCLZU 3310, CRC= 38,6 mm (C), (D) exemplar não coletado; CCLZU 3478, CRC= 36,8 mm (E e H), CCLZU3473, CRC= 36,4 mm (F e I), CCLZU 3475, CRC= 34 mm (G). Em D, E e F animais em vida. 109

Figura 19 – Importância dos caracteres morfométricos utilizados na análise de componentes principais em populações de *Scinax dolloi* e *S. hayii* de Castelo e Santa Teresa (Espírito Santo). Caracteres foram selecionados por representarem a maior variação encontrada entre as populações. 112

Figura 20 – Análise de componentes principais em onze populações de *Scinax dolloi*, incluindo *S. hayii* de Castelo e Santa Teresa, utilizando seis caracteres morfométricos. O eixo x (componente principal 1) explica 78,9% da variação encontrada e o eixo y (componente principal 2) 11,5%. Caracteres representados nos eixos centrais da figura são: Comprimento

rostro-cloacal (CRC), comprimento do pé (CP), comprimento da tíbia (CT), comprimento do fêmur (CF), largura da cabeça (LC) e comprimento do braço (CB). 113

Figura 21 – *Box e jitter plot* utilizando o parâmetro comprimento rostro-cloacal populações de *Scinax dolloi*, incluindo populações de Castelo e Santa Teresa (ES) identificados como *Scinax hayii*. Box representam primeiro e terceiro quartis; linha central representa a mediana; linhas verticais apresentam valores de amplitude; pontos representam valores de cada exemplar mensurado. 114

Figura 22 – Árvore de máxima verossimilhança dos fragmentos mitocondriais sequenciados do gene Citocromo c Oxidase I (COI) de espécies de *Scinax* (*S. dolloi*, *S. duartei*, *S. granulatus*, *S. hayii* e *S. perereca*). Os números próximos aos nós indicam os valores de suporte dos agrupamentos em função do *bootstrap*. (T) indica topótipos. 120

Figura 23 – Distribuição geográfica de *Scinax dolloi*, *Scinax hayii* e *Scinax perereca*, utilizadas na análise molecular do gene COI. Estados brasileiros (UF): ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; SP, São Paulo; RJ, Rio de Janeiro; PR, Paraná; SC, Santa Catarina; RS, Rio Grande do Sul. 122

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 – Parâmetros espectrais e temporais do canto de anúncio de populações de *Scinax hayii*, *Scinax dolloi*. Topótipos estão destacadas. Os resultados são apresentados na forma de amplitude, média seguida de desvio padrão e coeficiente de variação (%). Faixa de frequência (FF), Frequência mínima (FMIN), Frequência máxima (FMAX), Frequência dominante (FD), duração da nota (DN), número de pulsos por nota (NP), duração dos pulsos (DP), intervalo entre pulsos (IEP), taxa de repetição das notas (TRN) e taxa de repetição dos pulsos (TRP). 34

Tabela 2 – Matriz de importância dos parâmetros bioacústicos utilizados na análise de componentes principais de populações de *Scinax hayii*. Componente principal (PC). 42

Tabela 3 – Valores do teste de Dunn utilizado para comparações par a par entre as populações de *Scinax hayii*. Em **A** comparações entre frequência dominante, **B** duração da nota, **C** número de pulsos e **D** taxa de repetição dos pulsos. Valores de p significativo (<0,05) são destacados em cinza. 43

Tabela 4 – Matriz de importância dos parâmetros acústicos utilizados na análise de componentes principais em populações de *Scinax dolloi*, e *S. hayii* de Bananal (SP) e Castelo (ES). Componente principal (PC). 48

Tabela 5 – Valores do teste de Dunn utilizado para comparações par a par entre as populações de *Scinax dolloi*. Em **A** comparações entre frequência dominante, **B** duração da nota, **C** número de pulsos e **D** taxa de repetição dos pulsos. Valores de p significativo (<0,05) são destacados em cinza. 49

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Matriz de importância dos caracteres morfométricos utilizados na análise de componentes principais. (PC) componente principal. (CRC) comprimento rostro-cloacal, (CT) comprimento da tibia, (CF) comprimento do fêmur, (CP) comprimento do pé, (LC) largura da cabeça e (CC) comprimento da cabeça. 90

Tabela 2 – Medidas morfométricas (em milímetros) de 18 caracteres analisados em populações identificadas como *Scinax hayii*. Os valores são referentes aos machos analisados. Resultados

são apresentados na forma de amplitude e média seguida de desvio padrão. Parâmetros analisados: comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento da cabeça (CC), largura da cabeça (LC), diâmetro do olho (DO), distância interorbital (DIO), distância olho-narina (DON), distância narina-focinho (DNF), distância inter-nasal (DIN), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do fêmur (CF), comprimento da tíbia (CT), comprimento do pé (CP), comprimento do tarso (CTAR), comprimento da mão (CM), comprimento do braço (CB), comprimento do antebraço (CAB), diâmetro do disco adesivo do dedo 3 da mão (DD3), diâmetro do disco adesivo do dedo 4 do pé (DD4). 93

Tabela 3 – Teste de Dunn utilizando o comprimento rostro-cloacal para comparar 14 populações identificadas como *Scinax hayii*. Valores estatisticamente significativos ($p < 0,05$) estão destacados em cinza. 96

Tabela 4 – Matriz de importância dos utilizados na análise de componentes principais em populações de *S. dolloi* incluindo populações de *S. hayii* do Espírito Santo (Castelo e Santa Teresa). (PC) componente principal. Caracteres: comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento do pé (CP), comprimento da tíbia (CT), comprimento do fêmur (CF), largura da cabeça (LC) e comprimento do braço (CB). 111

Tabela 5 – Parâmetros morfométricos de 18 caracteres de nove populações de *Scinax dolloi* na Serra da Mantiqueira. Valores são apresentados em milímetros, na forma de amplitude e média seguida de desvio padrão. Parâmetros analisados: comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento da cabeça (CC), largura da cabeça (LC), diâmetro do olho (DO), distância interorbital (DIO), distância olho-narina (DON), distância narina-focinho (DNF), distância inter-nasal (DIN), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do fêmur (CF), comprimento da tíbia (CT), comprimento do pé (CP), comprimento do tarso (CTAR), comprimento da mão (CM), comprimento do braço (CB), comprimento do antebraço (CAB), diâmetro do disco adesivo do dedo 3 da mão (DD3), diâmetro do disco adesivo do dedo 4 do pé (DD4). 115

Tabela 6 – Teste de Dunn aplicado entre as populações de *Scinax dolloi* amostradas na Serra da Mantiqueira e populações identificadas como *S. hayii* de Castelo e Santa Teresa, Espírito Santo, utilizando o parâmetro rostro-cloacal (CRC). Valores de p significativos ($p < 0,05$) são destacados em cinza. 117

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	22
REFERÊNCIAS	23
3 CAPÍTULO 1: VARIAÇÕES POPULACIONAIS NO CANTO DE ANÚNCIO DE <i>SCINAX HAYII</i> (BARBOUR, 1909) E <i>SCINAX DOLLOI</i> (WERNER, 1903)	26
4 RESUMO	26
5 INTRODUÇÃO	27
6 MATERIAL E MÉTODOS	29
6.1 Populações amostradas	29
6.2 Análise de vocalização	30
7 RESULTADOS	33
7.1 Descrição do canto de anúncio de <i>Scinax hayii</i> e <i>Scinax dolloi</i>	33
7.1.1 Comparações bioacústicas em populações de <i>Scinax hayii</i>	39
7.1.2 Comparações bioacústicas em populações de <i>Scinax dolloi</i> na Serra da Mantiqueira	45
8 DISCUSSÃO	51
REFERÊNCIAS	57
APÊNDICE A - ARQUIVOS SONOROS ANALISADOS	60

9 CAPÍTULO 2: ANÁLISES MORFOMÉTRICAS, MORFOLÓGICAS E MOLECULARES EM POPULAÇÕES DE <i>SCINAX HAYII</i> (BARBOUR, 1909) E <i>SCINAX DOLLOI</i> (WERNER, 1903) (ANURA, HYLIDAE)	61
10 RESUMO	61
11 INTRODUÇÃO	62
12 MATERIAL E MÉTODOS	65
12.1 Análise morfométrica	65
12.2 Análise morfológica	66
12.3 Análise molecular	67
12.4 Análise estatística	69
12.4.1 Morfometria	69
12.4.2 Análise Molecular	70
13 RESULTADOS	71
13.1 Redescrição de <i>Scinax hayii</i>	71
13.1.1 Variações populacionais em <i>Scinax hayii</i>	76
13.1.2 Comparações morfométricas	88
13.2 Redescrição de <i>Scinax dolloi</i>	97
13.2.1 Variações populacionais em <i>Scinax dolloi</i>	102
13.2.2 Comparações morfométricas	110

13.3 Análise Molecular	118
14 DISCUSSÃO	123
15 CONCLUSÃO	132
REFERÊNCIAS	134
APÊNDICE A – LISTA DE ESPÉCIMES ANALISADOS	139
APÊNDICE B – LISTA DE TECIDOS ANALISADOS DE <i>SCINAX</i>	139
APÊNDICE C – TRABALHOS PÚBLICADOS PROVENIENTES DO PROJETO	145
ANEXO A – GEOMORFOLOGIA DO ESTADO DE SÃO PAULO	168

1 INTRODUÇÃO

A subfamília Scinaxinae foi proposta por Duellman et al. (2016) e apresenta atualmente 140 espécies (veja FROST, 2020) distribuídas em quatro gêneros. O gênero *Ololygon* Fitzinger, 1843, possui 50 espécies e foi revalidado para comportar as espécies anteriormente alocadas no grupo *Scinax catharinae* (*sensu* FAIVOVICH, 2002). O gênero *Julianus* apresenta três espécies atualmente, sendo proposto por Duellman, Marion e Hedges (2016) para alocar as espécies do grupo *Scinax uruguayus* que anteriormente estavam alocadas no grupo *Scinax ruber* (*sensu* FAIVOVICH et al., 2005). O gênero *Scinax* Wagler, 1830, é o gênero mais especioso da subfamília Scinaxinae contendo até o presente momento 72 espécies (FROST, 2020). Todas as espécies que estavam até então alocadas no clado *Scinax ruber* de espécies por Faivovich (2002) (exceto grupo *S. uruguayus*) continuaram usando o epíteto genérico *Scinax* (DUELLMAN et al., 2016). O quarto gênero pertencente à família Scinaxinae é o gênero *Sphaenorhynchus* Tschudi, 1838, que é considerado um táxon irmão, mas com baixo valor de suporte (apenas 49%), segundo análise molecular feita por Duellman et al. (2016). Atualmente o gênero *Sphaenorhynchus* apresenta 15 espécies (ARAUJO-VIEIRA et al., 2019; FROST, 2020). Faivovich et al. (2018) discutem a preblemática em reconhecer Scinaxinae como subfamília devido ao baixo valor de suporte (<50%) e suas instáveis relações, propondo a tribo Scinaxini para *Scinax* (incluindo *Julianus* e *Ololygon*) e a tribo Sphaenorhynchini para o gênero *Sphaenorhynchus*.

Apesar de ser o gênero mais especioso, o número de espécies para *Scinax* ainda é subestimado e novas espécies vêm sendo descritas nos últimos anos (*Scinax haddadorum* Araujo-Vieira, Valdujo, e Faivovich, 2016; *Scinax rossaferesae* Conte, Araujo-Vieira, Crivellari, e Berneck, 2016; *Scinax onca* Ferrão, Moravec, Fraga, Pinheiro de Almeida, Kaefer, e Lima, 2017; *Scinax caprarius* Acosta-Galvis, 2018; *Scinax ruberoculatus* Ferrão, Fraga,

Moravec, Kaefer, e Lima, 2018; *Scinax strussmannae* Ferrão, Fraga, Moravec, Kaefer e Lima, 2018; *Scinax tsachila* Ron, Duellman, Caminer e Pazmiño, 2018).

Alguns grupos de espécies do gênero *Scinax* apresentam morfologia conservada sendo comum duas ou mais espécies serem denominados sob apenas um nome (chamadas espécies morfologicamente crípticas) (LUTZ, 1973; NUNES et al., 2012; RON et al., 2018). Estudos taxonômicos envolvendo esses chamados complexos de espécies morfologicamente crípticas têm apresentado sucesso no desmembramento e nominação das novas espécies bem como aumentado a perspectiva sobre o conhecimento da diversidade de espécies de anuros (NUNES et al., 2012; FERRÃO et al., 2017; RON et al., 2018). Todavia, a dificuldade no uso da morfologia para o desmembramento das espécies crípticas, levou a ascensão da taxonomia integrativa (PADIAL et al., 2010). Esta utiliza vários caracteres como o canto, ecologia, comportamento e principalmente análises moleculares, que tem sido a vanguarda em reconhecer novas unidades taxonômicas, usando diferenciação do DNA para identificar novas espécies em unidades morfológicas semelhantes (VENCES et al., 2005; FOUQUET et al., 2007; RON et al., 2018;).

Em 1909 em seu artigo intitulado “Some new South American cold-blooded vertebrates”, o naturalista Thomas Barbour (1884—1946) descreveu uma espécie do gênero *Hyla* nomeando-a como *Hyla hayii* em homenagem a Clarence L. Hay, “um entusiasmado ajudante em muitas excursões de coleta” (em tradução livre). Essa descrição foi baseada em um exemplar (MCZ 2513 Harvard University) coletado em Petrópolis, Rio de Janeiro (localidade tipo) (BARBOUR, 1909).

Segundo Frost (2020) *S. hayii* possui distribuição no sudeste e sul do Brasil ocorrendo na Serra do Mar, do estado do Espírito Santo até o estado de Santa Catarina. A ocorrência da

espécie na Serra da Mantiqueira também é relatada (HADDAD e SAZIMA, 1992; POMBAL et al., 1995, MAGRINI et al., 2011).

Após a descrição da espécie *Scinax perereca* Pombal, Haddad e Kasahara, 1995, na localidade de Ribeirão Branco (região sul do estado de São Paulo), arbitrariamente as populações registradas partindo da localidade tipo de *S. perereca* até a região sul do Brasil passaram a ser referidas como *Scinax perereca*. Fato confirmado posteriormente por Silva (2017) que, em sua dissertação, revisando populações de *S. perereca* confirmou as semelhanças morfológicas, moleculares e bioacústicas das populações da região sul do Brasil em relação à localidade tipo Ribeirão Branco.

Ao longo de sua distribuição, diversas populações de *Scinax hayii* foram registradas e autores começaram a identificar e apontar diferenças existentes em seus caracteres morfológicos, morfométricos e bioacústicos (COCHRAN, 1955; LUTZ, 1973; HEYER et al., 1990; CARDOSO e ANDRADE, 1991; HADDAD e SAZIMA, 1992; POMBAL et al., 1995, MAGRINI et al., 2011; SANTOS e MARTINS, 2017). Devido as variações apontadas Haddad e Sazima (1992), Pombal et al. (1995 a, b) e Santos e Martins (2017) sugerem que *Scinax hayii* representa um complexo de espécies.

Scinax dolloi foi descrita por Werner (1903) baseado em duas fêmeas, estas depositadas no Institut Royal dês Sciences Naturalles em Brexelas na Bélgica (IRSNB 6481). Em sua descrição original a localidade tipo designada por Werner foi “Brazil in unknow location” em tradução livre significa Brasil em uma região desconhecida. Lang (1990) citou dois sintipos de “*Hyla dolloi*” coletados por Van Den Driessse em 30 de julho de 1897, para a localidade de “Haut Maringa Brésil” (Alto Maringá Brasil). Com base nessa informação houve uma interpretação geral assumindo a localidade tipo de *Scinax dolloi* como o Município de Maringá, no estado do Paraná, sul do Brasil. Entretanto o município de Maringá foi criado apenas em

1947, 44 anos após a descrição da espécie (Veja o histórico completo em CARAMASCHI et al., 2013).

Caramaschi et al. (2013) reavaliaram a interpretação da localidade tipo de *S. dolloi*, e designaram a Vila de Maringá, município de Itatiaia, Rio de Janeiro, como a localidade tipo da espécie. Entretanto, a vila de Maringá está localizada na Serra da Mantiqueira na fronteira entre os estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. Seus territórios permeiam por dois municípios, Itatiaia (Rio de Janeiro) e Bocaina de Minas (Minas Gerais), sendo que neste segundo se localiza as coordenadas geográficas apresentadas por Caramaschi et al. (2013) e designadas como localidade tipo.

Lutz (1973) considerou *S. dolloi* com uma “doubtful species”, devido a inexistência de espécimes coletados para identificação. Duellman (em FROST, 1985, 2020) relata que não há nenhuma população associada a esta espécie devido à falta de exemplares coletados. Baseando-se nos sítipos, Faivovich et al. (2005) relatam que *S. dolloi* é morfologicamente próxima de *S. hayii* e *S. perereca*. Contudo, a falta de espécimes coletados e a escassez de informações biológicas a respeito da espécie tornam a diagnose confusa e o status taxonômico de *Scinax dolloi* incerto.

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo investigar e caracterizar as variações morfológicas, morfométricas, bioacústicas e moleculares em diferentes populações de *Scinax hayii* e *S. dolloi* e suas possíveis implicações taxonômicas e ecológicas ao longo da Mata Atlântica, determinando também a distribuição geográfica de cada espécie.

15 CONCLUSÃO

Scinax hayii apresenta ampla distribuição do estado do Espírito Santo até o sul do estado de São Paulo ocorrendo em ambientes de planície litorânea e serra.

Scinax hayii apresenta polimorfismo em diferentes populações ao longo de sua distribuição e caracteres morfológicos não são bons parâmetro para comparações entre esse grupo de espécies (*S. hayii*, *S. dolloi* e *S. perereca*).

O canto de anúncio em populações de *S. hayii* é variável. Diferentes populações podem apresentar diferentes padrões de vocalização ao longo da distribuição. As populações da planície litorânea, em especial, possuem diferenças robustas na frequência dominante, taxa de repetição dos pulsos e duração da nota, em comparação com populações localizadas na serra.

Apesar de diferenças no canto e o polimorfismo em suas populações, *S. hayii* apresenta DNA (gene COI) conservado ao longo de sua distribuição geográfica, sendo rejeitado a hipótese que existam outras espécies sob o nome de *S. hayii*.

Populações do bloco sul da Serra da Mantiqueira (Itamonte, Cristina, Piquete, Queluz, Campos do Jordão, Santo Antonio do Pinhal e Camanducaia) antes identificadas como *S. hayii* são geneticamente próximas de *S. dolloi*.

Variações no canto de anúncio, menor tamanho corporal, e diferenças no DNA mitocondrial (gene COI) sugerem a divisão de *S. dolloi* em duas unidades taxonômicas distintas. Logo é necessário comparações com outras espécies de *Scinax* da região para a confirmação e descrição.

Scinax dolloi é uma espécie plena e atualmente registrada para as localidades de Maringá (Itatiaia, RJ e Bocaina de Minas, MG), Castelo e Vargem Alta no Espírito Santo. Contudo,

outras populações podem ser registradas na porção norte da Serra da Mantiqueira até o Espírito Santo.

REFERÊNCIAS

- AB’SÁBER, A.N. **Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas**. São Paulo: Ateliê Editorial. 160p. 2003.
- ALEIXO, A. Conceitos de espécie e o eterno conflito entre continuidade e operacionalidade: uma proposta de normatização de critérios para o reconhecimento de espécies pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. **Revista Brasileira de Ornitologia**. n.15, p. 229–242. 2007.
- ALMEIDA, F. F. M. Fundamentos geológicos do relevo paulista. São Paulo: Instituto Geográfico e Geológico, Geologia do Estado de São Paulo, p. 167-263 (Boletim, 41). 1964.
- ALMEIDA, F. F. M. de. The system of continental rifts bordering the Santos Basin, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, n. 48 (supl.), p. 15–26. 1976.
- ALMEIDA, F. F. M.; CARNEIRO, C. D. R. Origem e evolução da Serra do Mar. **Revista Brasileira de Geociências**. n. 28(2), p. 135–150. 1998.
- ÂNGULO, A.; CROCOFT, R.B.E.; REICHLE, S. Species identity in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Peru. **Herpetological**. n. 59(4), p. 490–504, 2003.
- AVISE, J.C. **Molecular markers, natural history, and evolution**. 2^a ed. Sunderland: Sinauer Associates. 2004.
- BANG, D.L.; GIARETTA, A.A. Redescription of the advertisement calls of *Scinax tigrinus* and *Scinax maracaya* (Anura: Hylidae) and an evaluation of their differential diagnosis. **Revista Brasileira de Biociências**. n.3, p. 181–186. 2016.
- BARBOUR, T. Some new South American cold-blooded vertebrates. **Proceedings of the New England Zoölogical Club**. Cambridge, Massachusetts 4: 47–52. 1909.
- BICKFORD, D.; LOHMAN, D.J.; SODHI, N.S.; NG, P.K.L.; MEIER, R.; WINKER, K.; INGRAM, K.K.; DAS, I. Cryptics species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology and Evolution**. n. 22, p. 148–155. 2007.
- CARAMASCHI U.; NUNES I.; NASCIMENTO L.B.; CARVALHO R.R. Jr. The type locality of *Scinax dolloi* (Werner, 1903) (Anura, Hylidae). **Zootaxa**. n. 3691(2), p. 299–300. 2013.
- CARNAVAL, A.C.O.Q. Phylogeography of Four Frog Species in Forest Fragments of Northeastern Brazil—A Preliminary Study. **Integrative and Comparative Biology**. n. 42, p. 913–921. 2002.
- COCHRAN, D. M. Frogs of Southeastern Brazil. US. **National Museum Bulletin**. n. 206:16, 423p. 1955.
- DARWIN, C. **A Origem das Espécies**. São Paulo: Martin Claret, 556 p. 2006.
- DUELLEMAN, W. E. **The Hylid frogs of Middle America**. Monograph of the Museum of Natural History the University of Kansas, 1, p 1–753. 1970.
- DUELLEMAN, W.E.; TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. New York: McGraw-Hill, 670p. 1986.

DUELLMAM, W.E. The Hylid Frogs of Middle America. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. **Ithaca**, 2v., xvi, 1158pp, 92 pls. 2001.

DUELLMAN, W. E.; MARION, A. B.; HEDGES, S. B. Phylogenetics, classification, and biogeography of the treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). **Zootaxa**. n. 4104, p. 1–109. 2016.

FAIVOVICH, J. A cladistic analysis of *Scinax* (Anura: Hylidae). **Cladistics**. n. 18, p. 367–393. 2002.

FAIVOVICH, J.; HADDAD, C.F.B.; GARCIA, P.C.A.; FROST, D.R.; CAMPBELL, J.A.; WHEELER, W.C. Systematic review of the frog family, with special reference to Hylinae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. **Bulletin of the American Museum of Natural History**. n. 294, p. 1–240. 2005.

FAIVOVICH, J.; PEREYRA, M. O.; LUNA, M. C.; HERTZ, A.; BLOTTO, B. L.; VÁSQUEZ-ALMAZÁN, C. R.; MCCRANIE, J. R.; SÁNCHEZ, D. A.; COSTA, D. B. P.; ARAUJO-VIEIRA, K.; KÖHLER, G.; KUBICKI, B.; CAMPBELL, J. A.; FROST, D. R.; WHEELER, W. C.; HADDAD, C. F. B. H. On the Monophyly and Relationships of Several Genera of Hylini (Anura: Hylidae: Hylinae), with Comments on Recent Taxonomic Changes in Hylids. **South American Journal of Herpetology**. n. 13(1), p. 1–32. 2018.

FARIA, D. C. C.; SIGNORELLI, L.; MORAIS, A. R.; BASTOS, R. P.; MACIEL, N. M. Geographic structure and acoustic variation in populations of *Scinax squalirostris* (A. Lutz, 1925) (Anura: Hylidae) **North-Western Journal of Zoology**. n. 9 (2): art.131514, 2013.

FERRÃO, M.; COLATRELI O.; de FRAGA, R.; KAEFER, I. L.; MORAVEC, J.; LIMA, A. P. High Species Richness of *Scinax* Treefrogs (Hylidae) in a Threatened Amazonian Landscape Revealed by an Integrative Approach. **PLoS ONE** 11(11): e0165679, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165679>

FERRÃO, M.; MORAVEC, J.; de FRAGA, R.; de ALMEIDA, A. P.; KAEFER, Í. L.; LIMA, A. P. A new species of *Scinax* from the Purus-Madeira interfluve, Brazilian Amazonia (Anura, Hylidae). **ZooKeys**. n. 706, p. 137–162, 2017.

FORTI, L. R. Temporada reprodutiva, micro-habitat e turno de vocalização de anfíbios anuros em lagoa de Floresta Atlântica, no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecias**. n.11(1), p. 89–98. 2009.

FOUQUET, A.; VENCES, M.; SALDUCCI, M.D.; MARTY, C.; BLANC, M.; GILLES, A. Revealing cryptic diversity using molecular phylogenetics and phylogeography in frogs of the *Scinax ruber* and *Rhinella margaritifera* species groups. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Elsevier. n. 43, p. 567–582, 2007.

FREITAS, M. S. **Estratigrafia de Alta Resolução e Geoquímica Orgânica da Formação Tremembé, Terciário da Bacia de Taubaté, na região de Taubaté-Tremembé-SP**. 2007. 80 p. Dissertação (Mestrado em Análises de Bacias e faixas móveis) Universidade do Estado do Rio de Janeiro-UERJ, Rio de Janeiro. 2007.

FROST, D.R. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0. Electronic Database. Accessible at: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/Anura/Hylidae/Scinaxinae>. 2020.

GAREY, M. V.; PROVETE, D. B.; MARTINS, I. A.; HADDAD C. F. B.; ROSSA-FERES, D. C. Anurans from the Serra da Bocaina National Park and surrounding buffer area, southeastern Brazil. **Check List**. n. 10(2), p. 308–316, 2014.

GUINDON S.; DUFAYARD J.F.; LEFORT V.; ANISIMOVA M.; HORDIJK W.; GASCUEL O. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. **Systematic Biology**. n. 59(3), p. 307–21. 2010.

HADDAD, C. F. B.; SAZIMA, I. Anfíbios anuros da Serra do Japi. *In*: Morellato, L. P. C. (Org.) **História natural da Serra do Japi. Ecologia e Preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil**. Editora da UNICAMP. p. 188–211, 1992.

HEYER, W. R. Systematics of the pentadactylus speciels group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). Series: Smithsonian Institution. **Smithsonian contributions to zoology**, n. 301. 1974.

HEYER, W. R.; RAND, A. S.; CRUZ, C.A.G.; PEIXOTO, O. L.; NELSON, C. E. Frogs of Boracéia. **Arquivos de Zoologia**. n. 31, p. 231–410. 1990.

HEYER, W.R., REID, Y.R. Does advertisement call variation coincide with genetic variation in the genetically diverse frog taxon currently known as *Leptodactylus fuscus* (Amphibia: Leptodactylidae)? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. n. 75. p. 39–54. 2002.

HUA, X.; WIENS, J. J. Latitudinal variation in speciation mechanisms in frogs. **Evolution**. n. 64-2, p. 429–443. 2010.

JANZEN, D. H. Why mountain passes are higher in the tropics. **American Naturalist**. n.101, p. 233–249. 1967.

JUARES, A. M. **Diversidade de anuros da Serra da Mantiqueira, na região do Pico dos Marins**. 2011. 120f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2011.

KATO, S. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability (outlines version 7). **Molecular Biology and Evolution**. n. 30, p. 772-780. 2013.

KOZAK, K. H.; WIENS, J. J. Climatic zonation drives latitudinal variation in speciation mechanisms. *Proceeding of the Royal Society B*. n. 274, p. 2995–3003. 2007.

LUTZ, B. **Brazilian species of *Hyla***. Un. of Texas Press. 260 p. 1973.

LYRA, M.L.; HADDAD, C.F.B.H.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Meeting the challenge of DNA barcoding Neotropical amphibians: polymerase chain reaction optimization and new COI primers. **Molecular Ecology Resources**. n. 17, p. 966–980. 2016.

MAYR, E.; ASHLOCK, P. D. **Principles of Systematic Zoology**. 2nd edition. Singapore: McGraw-Hill, 1991.

MÂNGIA, S., SANTANA, D. J.; CRUZ, C. A. G.; FEIO, R. N. Taxonomic review of *Proceratophrys melanopogon* (Miranda-Ribeiro, 1926) with description of four new species (Amphibia, Anura, Odontophrynidae). **Boletim do Museu Nacional**. n. 531, p. 1–33. 2014

- MANIATIS, T.; FRITSCH, E. F.; SAMBROOK, J. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor Laboratory, New York. 545 p. 1982.
- MARCELINO, V. R.; HADDAD, C.F.B.; ALEXANDRINO, J. Geographic distribution and morphological variation of striped and nonstriped populations of the Brazilian Atlantic Forest treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). **Journal of Herpetology**. n. 43, p. 351–361. 2009.
- MARTINS I. A.; HADDAD, C. F. B. H. A new species of *Ischnocnema* from highlands of the Atlantic Forest, Southeastern Brazil (Terrarana, Brachycephalidae). **Zootaxa**. n. 2617, p. 55–65. 2010.
- NELSON, G. Outline of a theory of comparative biology. **Systematic Zoology**. n. 19, p. 373–384. 1970.
- NUNES, I.; KWET, A.; POMBAL J.P. Jr. Taxonomic revision of the *Scinax alter* species complex (Anura: Hylidae). **Copeia**. n. 3, p. 554–569. 2012.
- POMBAL, J. P., JR.; BASTOS, R. P.; HADDAD, C. F. B. Vocalizações de algumas espécies do gênero *Scinax* (Anura, Hylidae) do sudeste do Brasil e comentários taxonômicos. **Naturalia**. n. 20, p. 213–225, 1995.
- POMBAL, Jr., J. P.; HADDAD, C. F. B. Frogs of the genus *Paratelmatobius* (Anura: Leptodactylidae) with descriptions of two new species. **Copeia**. n. 4, p. 1014–1026. 1999.
- PUGLIESE, A. **Revisão taxonômica do complexo de espécies de *Scinax duartei* (B. Lutz, 1951) (Anura, Hylidae)**. 2002. 142f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Rio de Janeiro. 2002.
- REGO, M. L. F. Notas sobre a geomorfologia de São Paulo e sua gênese. Instituto Astronomico Geofísico de São Paulo, São Paulo. 1932.
- RON, S. R.; SANTOS, J. C.; CANNATELLA, D. C. Phylogeny of the túngara frog genus *Engystomops* (= *Physalaemus pustulosus* species group; Anura: Leptodactylidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. n. 39, p. 392–403. 2006.
- RON, S. R.; DUELLMAN W. E.; CAMINER, M. A.; PAZMIÑO, D. Advertisement calls and DNA sequences reveal a new species of *Scinax* (Anura: Hylidae) on the Pacific lowlands of Ecuador. **PLoS (Public Library of Science) One**. n. 13 (9: e0203169), p. 1–25. 2018.
- ROSS, J. L. S. **Geografia do Brasil**. EDUSP, São Paulo. [S.l: s.n.], 2005.
- SANTOS, L. R. **Análises morfológicas e bioacústicas em populações de *Scinax hayii* (Barbour, 1909) (Anura, Hylidae) ao longo da Mata Atlântica**. 2015. 106f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto. 2015.
- SILVA, P. H. **Investigação taxonômica em populações de *Scinax perereca* Pombal Jr., Haddad & Kasahara, 1995 (Anura: Hylidae)**. 2017. 71f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal)- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto. 2017.
- SITES Jr., J. W.; MARSHALL, J.C. Operational criteria for delimiting species. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**. n. 35, p. 199–277. 2004.

STUART, S. N.; CHANSON, J. S.; COX, N. A.; YOUNG, B. E.; RODRIGUES, A. S. L.; FISCHMAN, D. L.; WALLER, R. W. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. **Science**. n. 306, p. 1783–1786. 2004. (doi:10. 1126/science.1103538)

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T.J. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**. n. 22, p. 4673–4680. 1994.

VANZOLINI, P. E. **Métodos estatísticos elementares em sistemática zoológica**. São Paulo, Editora Hucítec. 130p. 1993.

WERNER, F. Neue Reptilien und Batrachier aus dem naturhistorischen Museum in Brussel. Nebst bemerkungen uber einige andere Arten. **Zoological Anzeiger**. n. 26,2 p.46–253. 1903.