



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

Diversidade e evolução do gênero *Adenomera* Steindachner, 1867 (Anura, Leptodactylidae)

CARLA SANTANA CASSINI

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Área de concentração Zoologia).

CARLA SANTANA CASSINI

**Diversidade e evolução do gênero *Adenomera*
Steindachner, 1867 (Anura, Leptodactylidae)**

Orientador: Célio Fernando Baptista Haddad

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Área de concentração Zoologia).

Março

2015

CARLA SANTANA CASSINI

**Diversidade e evolução do gênero *Adenomera*
Steindachner, 1867 (Anura, Leptodactylidae)**

COMISSÃO EXAMINADORA

Rio Claro, 30 de março de 2015.

Março
2015

“This is ourselves
Under pressure”
(Queen, 1981)

AGRADECIMENTOS

Este trabalho só se concretizou porque ao longo dos anos pude contar com a preciosa ajuda de várias pessoas, às quais agradeço sinceramente:

Ao meu orientador Célio pela oportunidade concedida, pelo exemplo profissional e pela confiança depositada em mim.

À minha família, Sérvio, Vanira e Pedro pelo estímulo constante e apoio incondicional para que eu seguisse a carreira acadêmica.

Aos curadores das coleções José Pombal Júnior, Paulo Garcia, Mirco Solé, Hussam Zaher, Taran Grant e Julián Faivovich pelo empréstimo de tecidos e exemplares sob seus cuidados, sem os quais não este projeto não teria sido viável.

Ao Axel Kwet pela atenção nos e-mails e pelos cantos cedidos para análise dos holótipos de *A. araucária* e *A. engelsi*, e de exemplares de *A. nana* e de i sp. n “catarinense”.

Ao Phillippe Kok pela gentileza em examinar caracteres morfológicos de *Adenomera lutzi* e *A. heyeri*.

À Ariadne Fares e Mariana Lyra pela inestimável ajuda no CEIS.

Ao Antoine Fouquet pela oportunidade de colaboração.

Ao Pedro Taucce pela oportunidade de orientação, colaboração e principalmente por deixar meu dia a dia mais leve. À sua amizade serei **sempre** grata!

À todos que me ajudaram nos trabalhos de campo realizados ao longo desses anos Bianca Berneck e Marina Walker (minha dupla infalível preferida!), Victor Dill, Carlos Paulo Callithrix, Julián Faivovich, William Costa, Iuri Ribeiro, Angele Delieux, Rafel Pontes, Camila Matedi, Carol Calijorne e Thiago Silva Lex.

À Mariana Lyra pelo abrigo cedido durante a escrita da tese num ambiente inspirador.

Aos colegas de laboratório UNESP-RC Bianca Berneck, Marina Walker, Carol Calijorne, Ariadne Fares, Pedro Taucce, Barnagleison Lisboa, Francisco Brusqueti, Carlos Paulo Callithrix, Fábio Quase Perin, Lucas Bandeira, Danilo Barea Jesus, Eliziane Garcia, Nadya Pupin, Laryssa Teixeira, Vinícius Loredam, Thaís Condez, Délio Baêta, Leo Malagoli, Maria Tereza, Olívia Gabriela e Marília Peri pelo convívio diário produtivo e divertido.

Ao Taran Grant e Boris Blotto pelas discussões sempre inspiradoras e produtivas.

Ao Victor Dill, por nunca ter se cansado de conversar sobre trabalho comigo, pela compreensão das minhas ausências e por me fazer tão bem mesmo nos momentos mais turbulentos de finais de teses. À sua amizade, companheirismo e amor. MUITO OBRIGADA!

Aos meus orientadores de graduação, Renato Feio, e de mestrado, Carlos Cruz e Ulisses Caramaschi, por serem as pessoas que, juntamente com o Célio Haddad, foram os principais responsáveis pela minha formação.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP) pelo fomento provido para a realização da tese (através do processo 2010/515606-8) e ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA) e aos diretores dos parques pela licença concedida. Aproveito o momento e agradeço à Comissão de Pós-Graduação pelos prazos concedidos.

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
CAPÍTULO 1	9
DELIMITAÇÃO ESPECÍFICA DOS CLADOS THOMEI E MARMORATA DO GÊNERO <i>ADENOMERA</i> STEINDACHNER, 1867 (ANURA, LEPTODACTYLIDAE).....	9
RESUMO.....	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	11
HISTÓRICO TAXONÔMICO.....	15
OBJETIVOS.....	20
METODOLOGIA	21
NATUREZA DOS DADOS E NOMENCLATURA	21
PROCEDIMENTOS MOLECULARES	23
MORFOLOGIA EXTERNA E BIOACÚSTICA.....	25
DELIMITAÇÃO ESPECÍFICA	27
RESULTADOS	28
ANÁLISE FILOGENÉTICA.....	28
ANÁLISE ACÚSTICA E MORFOLÓGICA	38
CARACTERIZAÇÃO TAXÔNOMICA DE ALGUMAS ESPÉCIES DO CLADO MATA ATLÂNTICA DO GÊNERO <i>ADENOMERA</i>	76
DISCUSSÃO	123
TOPOLOGIA.....	123
DELIMITAÇÃO ESPECÍFICA EM <i>ADENOMERA</i> NOS CLADOS THOMEI E MARMORATA	124
ESPÉCIES CRÍPTICAS E ESPÉCIES PARAFILÉTICAS	134
AMOSTRAGEM E UTILIZAÇÃO DE DADOS DIRETOS	136
CONCLUSÕES	139
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140
CAPÍTULO 2	157
EVOLUÇÃO FENOTÍPICA NO GÊNERO <i>ADENOMERA</i> STEINDACHNER, 1867 COM COMENTÁRIOS ACERCA DA SUBFAMÍLIA LEPTODACTYLINAE	157
RESUMO.....	157

ABSTRACT	158
INTRODUÇÃO	159
BREVE HISTÓRICO SOBRE O GÊNERO <i>ADENOMERA</i>	160
FONTES DE EVIDÊNCIA	163
OBJETIVOS	167
MATERIAIS E MÉTODOS	167
AMOSTRAGEM DOS GRUPOS INTERNO E EXTERNO	167
AMOSTRAGEM DE CARACTERES	169
ANÁLISE FILOGENÉTICA	174
RESULTADOS	176
CARACTERES FENOTÍPICOS	176
ANÁLISE FILOGENÉTICA	196
SINAPOMORFIAS	198
DISCUSSÃO	216
TOPOLOGIA.....	216
BIOACÚSTICA	219
SINAPOMORFIAS	222
NINHO DE ESPUMA.....	226
DIETA DOS GIRINOS	230
EM BUSCA DA TERRESTRIALIDADE?	233
CONCLUSÕES	237
SINAPOMORFIAS	237
EVOLUÇÃO DE CARACTERES	238
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	240
APÊNCIDES	267

INTRODUÇÃO GERAL

Documentar a biodiversidade se tornou uma corrida contra o relógio considerando o ritmo da degradação ambiental e, conseqüentemente, da perda de habitats das espécies (Da Silva *et al.*, 2005; Laurance, 2007), o aparecimento de doenças (Pounds *et al.*, 2006) e a ameaça de mudanças climáticas (Rull e Vegas-Vilarrubia, 2006). Nosso conhecimento acerca da biodiversidade global ainda é rudimentar (Mora *et al.*, 2011) e o que conhecemos não deve representar 10% de toda a nossa biodiversidade (Hammond, 1992 *apud* Hanken, 1999). Esta lacuna enorme no conhecimento não está limitada apenas a grupos como microorganismos e artrópodos (Quince *et al.*, 2008; Hamilton *et al.*, 2013), mas também a alguns grupos de vertebrados, como é o caso de anfíbios tropicais (Fouquet *et al.*, 2007; Vieites *et al.*, 2009; Funk *et al.*, “2011” [2012]).

Inevitavelmente, diversas espécies e populações serão extintas antes mesmo de serem reconhecidas pela ciência (Wake e Vredenburg, 2008). Quando comparamos o conhecimento da biodiversidade das diferentes regiões do mundo, nos chama a atenção a deficiência deste conhecimento nos trópicos, que abrigam a maior biodiversidade global (Gaston e Williams, 1996; Dirzo e Raven, 2003). Os biomas da América do Sul são de extrema importância por abrigarem mais espécies do que em qualquer outro lugar do mundo (Gaston e Williams, 1996; Myers *et al.*, 2000).

A Mata Atlântica está distribuída ao longo do leste e sudoeste do Brasil, leste do Paraguai e norte da Argentina (Galindo-Leal e Gusmão Câmara, 2005). Este bioma é um dos mais importantes hotspots para a conservação da biodiversidade mundial devido ao seu alto grau de endemismo e, simultaneamente, por constituir um ambiente altamente ameaçado em

virtude do grau de degradação e da velocidade de destruição da floresta (Galindo-Leal e Gusmão Câmara, 2005). A intensa ocupação humana e as consequentes formas de uso da terra ao longo da faixa litorânea atlântica brasileira fizeram com que sua área fosse reduzida para 8% a 11% da formação original, sendo que mais de 80% dos remanescentes florestais correspondem a fragmentos menores do que 50 ha, com variados graus de isolamento (Galindo-Leal e Gusmão Câmara, 2005; Ribeiro *et al.*, 2009). Dado que um terço das espécies de anfíbios está ameaçado de extinção — mais do que qualquer outro grupo de vertebrado (Stuart *et al.*, 2004) — conhecer a biodiversidade de anfíbios deste bioma se torna um dos desafios mais importantes diante da crise da biodiversidade (Wake e Vredenburg, 2008).

Entretanto, conhecer a biodiversidade de anfíbios anuros é uma tarefa árdua, pois no geral, estes apresentam morfologia bastante conservada (Emerson, 1986). Contudo, avanços em diferentes linhas de pesquisas, dentre elas a biologia molecular, nos permite examinar mais de perto a extensão da complexidade desta biodiversidade. As descobertas de espécies crípticas (*sensu* Bickford *et al.*, 2007) estão alterando nossa percepção da estrutura da biodiversidade em níveis taxonômicos, ecológicos, biogeográficos, evolutivos e de políticas de conservação (Angulo and Icochea, 2010; Bickford *et al.*, 2007; Pfenninger and Schwenk, 2007).

O gênero *Adenomera* é constituído atualmente por 18 espécies distribuídas na América do Sul ao leste dos Andes, das quais oito estão distribuídas na Mata Atlântica. As espécies do gênero geralmente apresentam desenvolvimento terrestre com girinos endotrófico e constroem ninhos de espuma subterrâneos com desovas pequenas. No entanto, duas espécies, *A. diptyx* e *A. thomei*, apresentam desovas maiores e fase larval aquática (De la Riva, 1996; Almeida e Angulo, 2006). Apesar do grupo ser composto por espécies frequentemente abundantes onde ocorrem, por décadas o gênero foi negligenciado em

estudos de sistemática de anuros devido à sua taxonomia “caótica” (Angulo, 2004; Duellman, 2005). A complexidade taxonômica observada no gênero *Adenomera* pode ser atribuída devido a nossa dificuldade de: i) encontrar padrões morfológicos intra e interespecíficos a partir de indivíduos depositados em coleções e ii) estabelecer uma correlação de confiança dos dados acústicos com indivíduo depositado em coleção. Neste último caso, a situação mais comum é ter acesso ao arquivo de canto através de terceiros mas não existir o indivíduo testemunho, devido à dificuldade de coletar estes indivíduos em campo.

A primeira análise filogenética mais expressiva que incluiu o gênero *Adenomera* foi conduzida por Fouquet *et al.* (2013) com 11 espécies amostradas. Utilizando uma análise bayesiana, os autores recuperaram as espécies distribuídas na Mata Atlântica como um grupo monofilético. Posteriormente, numa extensa amostragem molecular do gênero *Adenomera*, Fouquet *et al.* (2014) delimitaram 35 espécies candidatas, das quais 16 já possuíam nome naquele momento. Os autores se basearam num protocolo adaptado de Vieites *et al.* (2009), buscando convergência hierárquica de evidências que incluía: monofilia recíproca, divergência genética, compartilhamento de alelos e dados indiretos (baseados em literatura) de morfologia e bioacústica da maioria das espécies candidatas.

O trabalho “Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae)” (Fouquet *et al.*, 2014; Apêndice 1) foi o primeiro subproduto desta tese. Na análise filogenética bayesiana, utilizando 320 terminais, Fouquet *et al.* (2014, figura 1) não recuperaram as espécies distribuídas na Mata Atlântica como um grupo monofilético. Nesta análise, o “clado Thomei” composto pelas espécies *A. thomei*, *A. sp. L* e *A. sp. M*, é recuperado como irmão dos clados Martinezzi (composto pelas espécies *A. martinezi*, *A. saci* e *A. sp. B*) e

Hylaedactyla (composto pelas espécies *A. hylaedactyla* e *A. diptyx*). Nesta topologia, o clado Thomei + Martinezi + Hylaedactyla apresenta baixa probabilidade posterior (0,60). Subsequentemente, no mesmo trabalho, quando um exemplar de cada espécie candidata foi selecionado para as análises de datação molecular multilocus ('species tree') e concatenada, ambas recuperaram as espécies distribuídas na Mata Atlântica como um grupo monofilético com a topologia: clado Thomei + clado Marmorata (Fouquet *et al.*, 2014; figura 4 a e b). Na análise concatenada esta topologia apresenta probabilidade posterior com valor maior que 0,95, porém na análise multilocus a mesma topologia apresentou probabilidade posterior no valor de 0,88. Após a submissão deste artigo, mais dados (moleculares, morfológicos e bioacústicos) foram coletados e uma reanálise foi feita no presente estudo.

Assim, esta tese está organizada em dois capítulos. No primeiro capítulo, realizamos uma análise filogenética do grupo com uma amostragem aumentada em relação a Fouquet *et al.* (2014) e testamos a hipótese de que cada espécie candidata (confirmadas e não confirmadas) dos clados Thomei e Marmorata (sensu Fouquet *et al.*, 2014) constitui uma espécie diagnosticável. Para tanto, usamos evidências moleculares, morfológicas e bioacústica a partir de dados diretos (dados fenotípicos obtidos de exemplares analisados molecularmente na análise filogenética). Em seguida, neste mesmo capítulo, apresentamos as considerações taxonômicas oriundas da análise de variação fenotípica de cada espécie com a descrição das espécies novas e redescritção das espécies de taxonomia complexa dos clado Marmorata. No segundo capítulo buscamos identificar padrões de evolução de caracteres fenotípicos, dentre eles aqueles usados para diagnosticar e diferenciar as espécies do gênero *Adenomera*. Para tal, testamos hipóteses de homologias e buscamos levantar possíveis sinapomorfias para o gênero *Adenomera* e para os grupos a ele relacionados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, A. d. P., Angulo, A. 2006. A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the state of Espírito Santo, Brazil, with remarks on the systematics of associated populations. *Zootaxa* 1334, 1–25.
- Angulo, A. 2004. The evolution of the acoustic communication system in members of the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae): a comparative approach. Graduate Department of Zoology. University of Toronto, Toronto, pp. xx + 232.
- Angulo, A., Icochea, J. 2010. Cryptic species complexes, widespread species and conservation: lessons from Amazonian frogs of the *Leptodactylus marmoratus* group (Anura: Leptodactylidae). *Systematics and Biodiversity* 8, 357–370.
- Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Ng, P. K. L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. K., Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 148–155.
- da Silva, J. M., Rylands, A. B., da Fonseca, G. A. B. 2005. O destino das áreas de endemismo da Amazônia. *Megadiversidade* 1, 124–131.
- de la Riva, I. 1996. The specific name of *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in the Paraguay river basin. *Journal of Herpetology* 30, 556–558.
- Dirzo, R., Raven, P. H. 2003. Global state of biodiversity and loss. *Annual Review of Environment and Resources* 28, 137–167.
- Duellman, W. E. 2005. Cusco Amazónico. The lives of amphibians and reptiles in an Amazonian rainforest. Cornell University Press, Ithaca.
- Emerson, S., 1986. Heterochrony and frogs: the relationship of a life history trait to morphological form. *American Naturalist*, 127: 167–183.

- Fouquet, A., Blotto, B. L., Maronna, M. M., Verdade, V. K., Juncá, F. A., de Sá, R. O., Rodrigues, M. T. 2013. Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 67, 445–457.
- Fouquet, A., Cassini, C. S., Haddad, C. F. B., Pech, N., Rodrigues, M. T. 2014. Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Biogeography* 41, 855–870.
- Fouquet, A., Gilles, A., Vences, M., Marty, C., Blanc, M., Gemmell, N. J. 2007. Underestimation of species richness in Neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. *PLoS ONE* 2, e1109.
- Funk, W. C., Caminer, M., Ron, S. R. "2011"[2012]. High levels of cryptic species diversity uncovered in Amazonian frogs. *Proceedings of the Royal Society B* 279, 1806–1814.
- Galindo-Leal, C., Gusmão Câmara, I. 2005. Mata Atlântica. Biodiversidade, Ameacas e perspectivas. Fundação SOS Mata Atlântica-Conservação Internacional, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.
- Gaston, K. J., Williams, P. H. 1996. Spatial patterns in taxonomic diversity. In: Gaston, K. J. (Ed.) *Biodiversity A biology of numbers and differences*, pp. 202–229.
- Hamilton, A. J., Novotny, V., Waters, E. K., Basset, Y., Benke, K. K., Grimbacher, P. S., Miller, S. E., Samuelson, G. A., Weiblen, G. D., Yen, J. D., Stork, N. E. 2013. Estimating global arthropod species richness: refining probabilistic models using probability bounds analysis. *Oecologia* 171, 357–365.
- Hammond, P. M. 1992. *Species inventory*. Chapman & Hall.

- Hanken, J. 1999. Why are there so many new amphibian species when amphibian are declining? *Trends in Ecology and Evolution* 14, 7–8.
- Laurance, W. F. 2007. Have we overstated the tropical biodiversity crisis? *Trends in Ecology and Evolution* 22, 65–70.
- Mora, C., Tittensor, D. P., Adl, S., Simpson, A. G. B., Worm, B. 2011. How many species are there on Earth and in the ocean? *PLoS Biology* 9, e1001127.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B., Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.
- Pfenninger, M., Schwenk, K. 2007. Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions. *BMC Evolutionary Biology* 7.
- Pounds, J. A., Bustamante, M. R., Coloma, L. A., Consuegra, J. A., Fogden, M. P. L., Foster, P. N., La Marca, E., Masters, K. L., Merino-Viteri, A., Puschendorf, R., Ron, S. R., Sánchez-Azofeifa, G. A., Sill, C. J., Young, B. E. 2006. Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature* 439, 161–167.
- Quince, C., Curtis, T. P., Sloan, W. T. 2008. The rational exploration of microbial diversity. *The ISME journal* 2, 997–1006.
- Ribeiro, M. C., Metzger, J. P., Martensen, A. C., Ponzoni, F. J., Hirota, M. M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation* 142, 1141–1153.
- Rull, V., Vegas-Vilarrubia, T. 2006. Unexpected biodiversity loss under global warming in the Neotropical Guayana highlands: a preliminary appraisal. *Global Change Biology* 12, 1–9.

- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S. L., Fischman, D. L., Waller, R. W. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306, 1783-1786.
- Vieites, D. R., Wollenberg, K. C., Andreone, F., Kohler, J., Glaw, F., Vences, M. 2009. Vast underestimation of Madagascar's biodiversity evidenced by an integrative amphibian inventory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 106: 8267-8272.
- Wake, D. B., Vredenburg, V. T. 2008. Colloquium paper: are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105 Suppl 1, 11466-11473.

CAPÍTULO 1

DELIMITAÇÃO ESPECÍFICA DOS CLADOS THOMEI E MARMORATA DO GÊNERO *ADENOMERA* STEINDACHNER, 1867 (ANURA, LEPTODACTYLIDAE)

RESUMO

O gênero *Adenomera* é composto por 16 espécies, das quais seis possuem distribuição restrita à Mata Atlântica. O grupo apresenta uma taxonomia complicada por apresentar espécies crípticas, com alto grau de polimorfismo intraespecífico e interespecífico. Recentemente, uma análise filogenética extensa, abrangendo grande parte da distribuição das espécies do gênero, 35 espécies candidatas foram propostas; 16 na Mata Atlântica. No presente trabalho, propomos testar se as espécies candidatas distribuídas na Mata Atlântica compõem um grupo monofilético. Usando uma abordagem interativa com dados diretos de morfologia externa e bioacústica, pudemos delimitar espécies dentro dos clados Thomei e Marmorata. A maior amostragem dados fenotípicos e de um fragmento do gene 16S de indivíduos da Mata Atlântica na análise, permitiu inferir com maior confiança que as espécies distribuídas na Mata Atlântica compõem um grupo monofilético (clados Thomei + Marmorata), irmão do clado *Hylaedactyla* + *Martinezi*. O material adicional nos permitiu delimitar e redescrever duas espécies previamente consideradas como um complexo de espécies (*Adenomera marmorata* e *A. bokermanni*). Das 16 espécies candidatas do clado

Mata Atlântica previamente sugeridas, pudemos delimitar apenas 10 espécies sendo sete já conhecidas e três novas para a Ciência.

ABSTRACT

The genus *Adenomera* has 16 species, six of which are Atlantic Forest dwellers. The genus has a difficult taxonomy, mostly due to the high levels of intra and interspecific polymorphism. Recently, a phylogenetic analysis using samples collected through the whole geographic distribution of the genus (roughly tropical and temperate cis-Andean South America) suggested the existence of 35 candidate species; 16 of which being Atlantic Forest dwellers. The present contribution intends to test whatever the Atlantic Forest dwellers are a monophyletic unit. An integrative approach with directly observed data on morphology and bioacoustics allowed species delimitation within the Thomei and Marmorata Clades. Based on a denser sampling of phenotypic and 16S rRNA fragments, we recovered the Atlantic Forest dwellers are a monophyletic unit, with two major clades (Thomei + Marmorata) and sister to the *Hylaedactyla* + *Martinezi* clade. The additional material allowed the delimitation and redescription of two species previously understood as species complexes (*Adenomera marmorata* and *A. bokermanni*). Of the 16 Atlantic Forest dwellers candidate species, we could delimit only 10; seven of those assignable to previously described species.

DELIMITAÇÃO ESPECÍFICA DOS CLADOS THOMEI E MARMORATA DO
GÊNERO *ADENOMERA* STEINDACHNER, 1867 (ANURA,
LEPTODACTYLIDAE)

“Também não discutirei aqui as muitas definições que já foram apresentadas sobre o termo espécie. Nenhuma dessas definições satisfaz todos os naturalistas, mesmo que todos tenham uma vaga ideia do que querem dizer quando se referem a uma espécie em particular.”

Darwin (1859)

INTRODUÇÃO

Embora “espécie” seja um conceito fundamental na biologia, estabelecer uma definição universal para tal não é algo trivial, se é que é possível (Mayr, 1963; Pavlinov, 2013; de Queiroz, 2007; Wheler & Meier, 2000). Todos os conceitos apresentam suas próprias idiossincrasias e nenhum pode ser aplicado para todas as formas de vida conhecidas (de Queiroz, 2007; Wheler & Meier, 2000), o que leva alguns autores a questionar se espécies são realmente entidades naturais (Mallet 2007). Dos vários conceitos propostos para definir espécies até hoje, os mais empregados na biologia moderna foram os conceitos biológico (Mayr, 1942); filogenético (Donogue, 1985; Cracraft, 1983) e evolutivo (Simpson, 1961; Wiley, 1978). Atualmente, a maioria dos biólogos modernos concorda que espécies são populações ou metapopulações que evoluem separadamente em linhagens independentes (de

Queiroz, 2007); uma abordagem muito semelhante (para não dizer a mesma) ao conceito evolutivo de espécie proposta por Wiley (1978), que definiu espécie como “uma única linhagem de populações ancestrais e seus descendentes que mantem sua identidade dentre todas as outras linhagens e que possui suas próprias tendências evolutivas e destino histórico”.

Uma vez bem fundamentada, a escolha do critério operacional para delimitação específica é tão importante quanto a definição teórica do conceito de espécie abordado num trabalho (Grant, 2002). Neste sentido, a operacionalização do conceito evolutivo de espécie segundo Wiley (1978) apresenta uma impossibilidade empírica, pois, a asserção de que uma espécie deve “manter sua identidade” possuindo um “destino histórico” único, implica na manutenção desta espécie numa perspectiva futura (Frost, 2000). Assegurar a manutenção da espécie para o futuro torna este conceito operacionalmente não-testável empiricamente e faz com que espécies que venham a sofrer introgressão, por exemplo, nunca tenham existido (Grant, 2002).

Já o conceito de espécie como um indivíduo histórico elaborado por Kluge (1990) define espécie como “o menor indivíduo histórico que apresenta padrões de parentesco de ancestralidade e descendência”. Assim, apesar de semelhante ao conceito evolutivo de Wiley (1978), o conceito de indivíduo histórico está centrado em se a menor unidade individual em questão se deve a interações contemporâneas e/ou relacionamento histórico, não sendo relevante a sua permanência no futuro (Grant *et al.*, 2002). Enquanto indivíduos contemporâneos compartilham um mesmo espaço e tempo em relações tokogenéticas durante um curto espaço de tempo (*e.g.*, demes); indivíduos históricos (espécies) não compartilham o mesmo espaço e /ou tempo, sendo relacionados devido à uma história em comum e não por

interações coexistentes, e por isso o relacionamento entre eles é filogenético (Kluge, 1990; figura 2). Operacionalmente, os indivíduos históricos são delimitados por autapomorfias (Kluge, 1990), ainda que estas sejam triviais ou “vulgares”, como a mudança na posição da terceira base de um códon, por exemplo (Frost e Kluge, 1994).

Ainda assim, muitas vezes é difícil apontar, no contínuo de diversificação das linhagens, se estas devem ser consideradas como espécies distintas ou não (de Queiroz, 2007; figura 1). Isto porque em diversificações recentes, linhagens ainda não mutuamente diagnosticáveis podem representar linhagens separadas apenas temporariamente ou linhagens cujas individualidades já representam distinção histórica da linhagem ancestral (Frost e Kluge, 1994; figuras 1 e 2). Por isso é necessário estabelecer um critério operacional utilizando múltiplas linhas de evidências relevantes para delimitar uma metapopulação (linhagem evolutiva) de outra (de Queiroz, 2007; Padial e de La Riva, 2010) e entender se as relações envolvidas são tokogenéticas (entre indivíduos contemporâneos) e/ou filogenéticas (entre indivíduos históricos).

Integrar distintos conjuntos de dados, lançando mão de mais de uma fonte de evidência para delimitar os taxa investigados tem sido o cerne da chamada “taxonomia integrativa” (Dayrat, 2005; Will *et al.*, 2005; Padial e de La Riva, 2009, 2010). No entanto, quando diferentes resultados são obtidos independentemente por meio de linhas de evidências distintas, incertezas podem emergir de modo que decisões taxonômicas se tornem arbitrárias (Wiens & Penkrot, 2002; Padial e de la Riva, 2009). Por isso, alguns autores contra-argumentam que a maioria dos estudos de taxonomia integrativa não necessariamente integram conjuntos de dados, mas analisam separadamente se distintas fontes de dados apresentam resultados que corroboram ou se correlacionam à uma determinada hipótese de

delimitação específica (Yeates *et al.*, 2011). No sentido comum que usamos a palavra integrar, a taxonomia integrativa deveria objetivar uma análise com métodos quantitativos onde distintos conjuntos de dados contribuem conjuntamente para a delimitação específica (Yeates *et al.*, 2011), como é proposto pela evidência total (Kluge, 1989). Apesar de todas as ressalvas, utilizaremos aqui o termo “integrativo” num sentido amplo, referindo-nos a qualquer tipo de análise que utilize de forma integrada, correlacionada ou corroborativa, distintos conjuntos de dados e/ou análises para delimitar determinados taxa.

Historicamente, a análise da morfologia externa juntamente com a análise bioacústica têm sido as maiores fontes de evidência utilizadas para delimitar as espécies em anfíbios anuros. A bioacústica, em especial, é uma ferramenta muito útil para entender os limites específicos deste grupo. Apesar da variação intrínseca, via de regra os machos produzem vocalizações estereotipadas e estas funcionam como uma barreira reprodutiva pré-zigótica entre espécies distintas (Ryan, 2001). No entanto, diferenças encontradas (morfológicas e/ou bioacústicas) podem ser resultado de plasticidade comportamental intrapopulacional devido ao contexto social (no caso da bioacústica) ou a variação geográfica (Martins e Jim, 2003; Cassini *et al.*, 2013; Costa e Toledo, 2013; Gambale e Bastos 2014), não indicando necessariamente a separação entre duas linhagens em indivíduos históricos distintos (Frost e Kluge, 1994; de Queiroz, 2007; Padial e De la Riva, 2010). De fato, vários exemplos de polimorfismos (morfológicos e acústicos) em de anuros, em especial do gênero *Adenomera*, mostram que a variabilidade específica pode dificultar a delimitação de espécies (Angulo *et al.*, 2003; Kokubum e Giaretta, 2005; Kwet, 2006; Angulo e Reichle, 2008; Angulo e Icochea, 2010).

Apesar do gênero *Adenomera* ser composto por espécies frequentemente abundante nos locais onde ocorrem, poucas revisões sistemáticas da taxonomia do grupo foram conduzidas (Heyer, 1973; 1974). O grupo apresenta espécies crípticas (*sensu* Bickford *et al.*, 2007), simpátricas, com alto grau de polimorfismo intraespecífico e interespecífico (De la Riva, 1996, Kwet e Angulo, 2002). Este cenário faz com que a delimitação específica precisa do gênero *Adenomera* seja desafiadora. Não obstante, grande esforço tem sido feito e alguns progressos obtidos (Kwet & Angulo, 2002; Angulo & Icochea, 2003, 2010; Angulo *et al.*, 2003; Kokubum & Giaretta, 2005; Almeida & Angulo, 2006; Kwet, 2007; Angulo & Reichle, 2008; Berneck *et al.*, 2008; Fouquet *et al.*, 2013; Fouquet *et al.*, 2014). Ainda assim, os últimos trabalhos mostram que várias espécies permanecem ainda por serem descritas (Angulo *et al.*, 2003; Angulo, 2004; Fouquet *et al.* 2013; Fouquet *et al.* 2014) e uma revisão taxonômica do grupo ainda se faz necessária.

HISTÓRICO TAXONÔMICO

HISTÓRICO DO GÊNERO ADENOMERA

O gênero *Adenomera* foi primeiramente apresentado por Steindachner (1867) na descrição de *Adenomera marmorata*. Adolpho Lutz (1930) foi o primeiro autor a sinonimizar o gênero *Adenomera* com *Leptodactylus* no subgênero *Parvulus* que seria composto por: *Leptodactylus* (*Parvulus*) *nanus* e *L. (Parvulus) trivitattus* (A. Lutz, 1926), que está atualmente na sinonímia de *A. marmorata*. Posteriormente, Parker (1932) alegou prioridade do nome *Adenomera* e propôs seu uso como subgênero de *Leptodactylus* no lugar de

Parvulus; Parker (1935) realocou *Adenomera marmorata* Steindachner para *Leptodactylus* (*L. marmoratus*).

Heyer (1969) organizou as espécies do gênero *Leptodactylus* em grupos, baseados em modos reprodutivos e morfologia larval, e definiu o grupo *L. marmoratus* (= gênero *Adenomera*) sendo composto pela espécie que nomeia o grupo, *L. marmoratus*, e *L. hylaedactylus*. Heyer (1973) assinalou três espécies adicionais ao grupo: *L. andreae*, *L. bokermanni* e *L. martinezi*.

Historicamente, muitos estudos tentaram definir a posição filogenética do gênero *Adenomera*, bem como seus relacionamentos internos. O gênero *Adenomera* foi revalidado por Heyer (1974) que recuperou em sua análise *Adenomera* + *Lithodytes* (com *Leptodactylus discodactylus* incluso) como grupo irmão das demais espécies do gênero *Leptodactylus*. Estudos subsequentes discutiram a posição filogenética do gênero *Adenomera* baseados em distintas linhas de evidência (morfologia externa, osteologia, história natural e DNA) e duas hipóteses de relacionamentos foram propostas: i) *Adenomera* + *Lithodytes* como grupo irmão de *Leptoactylus* stricto sensu, em concordância com Heyer (1974) (Frost *et al.*, 2006; Ponssa, 2008; Ponssa *et al.*, 2010) considerando rearranjos genéricos de *Leptodactylus discodactylus* e *L. lineatus* (Heyer, 1998; De Sá *et al.*, 2005; Frost *et al.*, 2006; Ponssa, 2008; Pyron e Wiens, 2011; de Sá *et al.*, 2014); ou ii) aninhado dentro do grupo de *L. fuscus*, tornando o gênero *Leptodactylus* parafilético (Heyer, 1998; Giaretta *et al.*, 2011).

Frost *et al.* (2006) sinonimizaram *Adenomera* com o gênero *Lithodytes*, e alocaram *Lithodytes* como subgênero de *Leptodactylus* numa tentativa de remediar a parafilia do gênero *Leptodactylus*, com base nas evidências sugeridas por Heyer (1998) e por Kokubum

e Giaretta (2005). No entanto, os últimos estudos filogenéticos envolvendo o gênero *Adenomera* (Pyron e Wiens, 2011; Fouquet *et al.*, 2013; Fouquet *et al.* 2014; de Sá *et al.*, 2014) recuperaram *Adenomera* + *Lithodythes* como clado irmão de *Leptodactylus stricto sensu*, não tornando este último parafilético. Destes últimos trabalhos apenas de Sá *et al.* (2014) revalidaram formalmente o gênero *Adenomera* baseados na forma reprodutiva de algumas espécies do gênero, distinta de todas as demais espécies do gênero *Leptodactylus*.

HISTÓRICO DAS ESPÉCIES DOS CLADOS THOMEI E MARMORATA

A Mata Atlântica abriga oito espécies do gênero *Adenomera*: *A. ajurauna* Berneck, Costa e Garcia, 2008; *A. araucaria* (Kwet e Angulo, 2002); *A. bokermanni* Heyer, 1973; *A. engelsi* (Kwet, Steiner e Zillikens, 2009); *A. hylaedactyla* (Cope, 1868); *A. marmorata* Steindachner, 1867; *A. nana* Müller, 1922; *A. thomei* Almeida e Angulo, 2006.

O holótipo de *A. marmorata* foi coletado na expedição “Novara Reise”, e portanto, sua localidade tipo é provavelmente o município do Rio de Janeiro ou alguma localidade próxima percorrida pela expedição percorreu como o maciço da Tijuca, Ilha de Paquetá e Petrópolis (Steindachner, 1867). Angulo (2004) reporta um canto de um indivíduo do município de Teresópolis e Almeida e Angulo (2006) atestam que os cantos do município de Teresópolis (e, portanto, próximo ao município de Petrópolis) e Rio de Janeiro são muito distintos um do outro. No entanto, cantos do município de Petrópolis ou Teresópolis não foram analisadas por Fouquet *et al.* (2014).

Leptodactylis trivittatus foi descrito por A. Lutz (1926) baseado em exemplares de “Campo Bello” e “Alto da Serra de Cubatão”, atualmente municípios de Itatiaia, estado do

Rio de Janeiro, e Santo André, estado de São Paulo, respectivamente (Bokermann, 1966). Bertha Lutz (1947) alocou *L. trivittatus* anteriormente descrita por A. Lutz como sinônimo júnior de *L. marmoratus*. Cochran (1956) redescreveu *Leptodactylus marmoratus* e considerou *L. nanus* e *L. trivittatus* como sinônimos daquela espécie. Heyer (1973) manteve a espécie *L. trivittatus* como sinônimo júnior de *L. marmoratus* e designou um lectótipo para ambas as espécies. Entretanto, o autor não distinguiu as localidades definidas anteriormente por Lutz (1926) e definiu como localidade tipo “Campo Bello, Alto da Serra de Cubatão, Brasil”. Uma vez que “Campo Bello” e “Alto da Serra de Cubatão” são duas localidades distintas e distantes entre si (cerca de 270 km), Cochran (1955), que havia anteriormente examinado o material que posteriormente Heyer (1973) designou como lectótipo da espécie *L. trivittatus*, especificou a localidade tipo da espécie como “Montserrat, Campo Bello, Rio de Janeiro”, onde fica localizada atualmente a sede do Parque Nacional do Itatiaia. Assim, se o nome *L. trivittatus* for válido (sob a combinação *A. trivittata*) corresponderá àquelas populações do município do Itatiaia, estado do Rio de Janeiro. Mais recentemente, Kwet (2007) revalidou *Leptodactylus nanus* e manteve a espécie *L. trivittatus* como sinônimo júnior de *L. marmoratus*, devido à distância geográfica separando as espécies *L. nanus* e *L. trivittatus*. Fouquet *et al.* (2014) sugeriram que a espécie candidada *A. sp. K*, do município de Itatiaia, poderia corresponder àquela população de Teresópolis (Angulo, 2004) ou do Itatiaia, podendo neste último caso, corresponder à espécie *A. trivittata*.

Adenomera bokermanni foi descrita por Heyer (1973). O autor designou o holótipo (UMMZ 104527) do município de Paranaguá, estado do Paraná e parátipos de várias localidades nos estados de Minas Gerais (municípios de “Água Limpa”, Caeté, Poços de Caldas e Belo Horizonte), Rio de Janeiro (municípios de Niterói, Teresópolis e Guapimirim),

São Paulo (municípios de Anhembi, Botucatu, Campos do Jordão, Iguape, Limeira, Piquete e Santa Branca) e Paraná (município de Morretes). O autor encontrou diferenças morfológicas entre indivíduos da série tipo, mas na ocasião ele considerou estas diferenças como sendo variações intraespecíficas. Mais tarde, Heyer (1984) alegaram que *A. bokermanni* é, na verdade, um complexo composto por pelo menos duas espécies. Fouquet *et al.* (2014) verificaram que a espécie *A. bokermanni* possui uma distribuição muito mais restrita (apenas o litoral do estado do Paraná e norte do estado de Santa Catarina) do que aquela definida por Heyer (1973). Considerando a área de ocorrência, muitos dos parátipos de *A. bokermanni* devem, na verdade, corresponder à espécie *A. thomei* (Fouquet *et al.*, 2014).

A. Lutz (1930) descreveu o canto de *Adenomera nana* como um “ping” metálico e, com base nisso, concluiu ser uma espécie muito comum e amplamente distribuída nos estados de Santa Catarina, São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Baseada em padrão de morfologia externa, Cochran (1956) aloca *A. nana* como sinônimo de *A. marmorata*. Mais tarde, utilizando uma metodologia baseada em caracteres morfológicos, Heyer (1973) chega a uma conclusão similar sobre a distribuição da espécie de *A. nana* que A. Lutz (1930; sobre o nome de *A. marmorata*). Mesmo não tendo comparado seus dados com publicações prévias (A. Lutz, 1930; Cochran, 1956), Heyer (1973) aloca a espécie *A. nana* como sinônimo de *A. marmorata*. Este ato nomenclatural foi questionado por Kwet e Angulo (2002). Mais tarde, Kwet (2007) retirou *A. nana* da sinonímia de *A. marmorata* e reconheceu-a como espécie plena baseado em análises bioacústicas. Fouquet *et al.* (2014) encontraram uma distribuição de *A. nana* muito similar àquela descrita previamente na literatura de (Kwet, 2006; Kwet, 2007; Conte *et al.*, 2010).

Fouquet *et al.* (2014) encontraram a espécie candidata *A. sp. R* como sendo irmã de *A. araucaria*. A primeira está distribuída na ilha de Florianópolis e áreas continentais adjacentes do estado de Santa Catarina e *A. araucaria* está distribuída desde o norte do estado do Rio Grande do Sul até a área central do estado de Santa Catarina. A identidade da espécie candidata *A. sp. R* ainda não está clara, pois estas populações já haviam sido reportadas anteriormente na literatura e seu status específico questionado (Kwet, 2007; Conte *et al.*, 2010). Segundo Fouquet *et al.* (2014), a espécie *A. sp. R* provavelmente corresponde à *A. sp. 2* (Kwet, 2007). Conte (2010) também analisou populações dos municípios dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul e considerou todas como representantes de uma única unidade evolutiva, não diferindo entre si, sob o nome de *A. araucaria*.

As espécies *A. ajurauna*, *A. araucaria*, *A. engelsi* e *A. thomei* foram descritas recentemente (Berneck *et al.*, 2006; Kwet, 2007; Kwet, 2009; Almeida e Angulo, 2006) com dados morfológicos e acústicos bem definidos a partir de populações que não haviam sido amostradas ou citadas previamente, não possuindo registro anterior na literatura. Por serem bem delimitadas em suas descrições originais, também não apresentam confusões taxonômicas históricas desde a sua descrição; portanto, não existe um histórico taxonômico a ser abordado.

OBJETIVOS

Baseando na definição de espécie como indivíduo histórico (Kluge, 1990; Grant, 2002), propomos reconstruir a história filogenética do gênero *Adenomera*. Para tanto, utilizaremos evidência histórica molecular (filogenética) e delimitar espécies dentro do

gênero *Adenomera* dos clados Thomei e Marmorata (sensu Fouquet *et al.*, 2014) utilizando dados diretos de morfologia externa e bioacústica (obtidos diretamente do exemplar analisado molecularmente). Assim, com uma amostragem aumentada poderemos analisar sistematicamente as hipóteses de espécies candidatas apresentadas por Fouquet *et al.* (2014). Com esta conduta, será possível associar com confiança cada informação morfológica e bioacústica a um dado terminal da árvore filogenética.

Nosso objetivo é, portanto, responder às seguintes questões : i) os clados Thomei e Marmorata formam um agrupamento monofilético? ii) Quantas espécies do gênero *Adenomera* ocorrem na Mata Atlântica? iii) Como é possível delimitá-las?

METODOLOGIA

NATUREZA DOS DADOS E NOMENCLATURA

A proposta de Vieites (2009) para classificar linhagens genealógicas em espécies candidatas é uma maneira rápida de acessar a possível diversidade específica envolvida dentro de um determinado grupo. Fouquet *et al.* (2014) se basearam nesta metodologia para acessar a diversidade envolvida no gênero *Adenomera* e classificaram as espécies candidatas em confirmadas ou não confirmadas, conforme a existência ou não de concordância entre divergência genética de linhagens e outras fontes de evidência. A natureza desta fonte de evidência utilizada para confrontar com os dados genéticos foi, em sua maioria, a partir de dados fenotípicos indiretos, obtidos a partir da literatura ou de indivíduos da mesma localidade não sequenciados, inferidos indiretamente à um determinado terminal. Os dados

diretos de morfologia e bioacústica são aqueles obtidos a partir do exemplar coletado e examinado geneticamente. É, portanto, uma informação direta e confiável que determinado terminal apresenta. Neste trabalho, utilizamos dados diretos para poder inferir com confiabilidade os limites específicos de cada espécie candidata.

A nomenclatura envolvendo espécies candidatas pode ser confusa, pois as espécies candidatas analisadas podem ou não possuir um nome formal (descrito e reconhecido como válido pelo código de nomenclatura zoológica), disponível para sua utilização. Quando não possuíam nomes formais disponíveis, nomes inespecíficos (numerais ou alfabéticos) foram dados às espécies candidatas (*e.g.*, *Adenomera* sp. A, A. sp. B, A. sp. K, A. sp. O; Fouquet *et al.*, 2014), não configurando um ato nomenclatural válido. No trabalho de Fouquet *et al.* (2014), quando dados filogenéticos e fenotípicos não indicaram que tais espécies candidatas propostas eram sinônimos de outra espécie, estas foram tratadas como espécies candidatas confirmadas. Caso contrário, quando não foi possível acessar a validade do nome da espécie com confiança, estas foram diagnosticadas como espécie candidatas não confirmadas. Como exemplo, *A. coca* foi recuperado como um clado dentro de *A. hylaedactyla* por Fouquet *et al.* (2014). Como não foi possível acessar com confiança a identidade de *A. hylaedactyla*, não foi possível saber se *A. coca* é um sinônimo de *A. hylaedactyla* ou não. Por isso, *A. coca* foi considerada como espécie candidata não confirmada (Fouquet *et al.*, 2014). Para a análise fenotípica das espécies candidatas, utilizamos a nomenclatura inespecífica de Fouquet *et al.* (2014) (*e.g.*, espécies candidatas *A. ajurauna*, A. sp. R). No presente trabalho utilizaremos os nomes dos clados em letra maiúscula e fonte regular (não itálico) e para a delimitação específica (subitem “Caracterização taxonômica de algumas espécies do clado Mata

Atlântica do gênero *Adenomera*” nos Resultados) uma nomenclatura formal com nomes fantasias distintos dos nomes fictícios das espécies candidatas de Fouquet *et al.* (2014).

PROCEDIMENTOS MOLECULARES

Novas sequências de DNA produzidas neste trabalho e as referências das amostras de tecido utilizadas bem como seus respectivos testemunhos (número de coleção ou número de campo dos exemplares dos quais procedem os tecidos sequenciados) encontram-se no Apêndice 2. Das sequências publicadas por Fouquet *et al.* (2014), utilizamos até cinco terminais de cada espécie candidata, exceto para os clados Thomei e Marmorata, dos quais utilizamos todas as sequências disponibilizadas pelos autores na análise filogenética. No presente trabalho, amostramos tecidos de 370 indivíduos do gênero *Adenomera* pertencentes aos clados Thomei e Marmorata de 61 localidades adicionais a Fouquet *et al.* (2014). Gravamos o canto de anúncio e analisamos a morfologia externa do testemunho do tecido utilizado na análise filogenética para cerca de 30% dos exemplares de todas as espécies candidatas de Fouquet *et al.* (2014) exceto por A. sp. A e A. sp. N (Apêndice 2). Seguimos a nomenclatura taxômica de Frost (2014).

A análise molecular foi conduzida a partir do sequenciamento de quatro fragmentos de genes (três mitocondriais e dois nucleares), além das sequências produzidas por Fouquet *et al.* (2014). Esforços foram concentrados para preencher o máximo possível da matriz com fragmentos dos genes mitocondriais COI e CytB (aproximadamente 600 pb cada um) e os nucleares RAG-1 (aproximadamente 800 pb) e POMC (aproximadamente 600 pb). Para um terço dos terminais foi sequenciado um fragmento do gene mitocondrial 16S (aproximadamente 600 pb). Os pares de primers utilizados seguiram Fouquet *et al.* (2014).

A extração do DNA (mitocondrial e nuclear) foi feita a partir de tecidos de músculo da perna dos indivíduos utilizando o kit DNeasy (Quiagen). A amplificação do DNA foi realizada utilizando Fermentas Master Mix e conduzida em termocicladores Axygen Maxygene. Para amplificação dos fragmentos de genes, conduzimos distintos protocolos que incluíam número de ciclos, temperatura e duração de cada fase da PCR (“polimerase chain reaction”), de acordo com par de primer. Para a maioria dos fragmentos, o programa padrão de reação de PCR inciou com a etapa de desnaturação de 2 minutos a 94° C, seguidos de 35 a 40 ciclos de anelamento (94° C por 30 segundos, 48–56° C por 30 segundos, 72° C por 2 minutos) e a etapa final de extensão a 72° C por 10 minutos. Produtos de PCR não purificados foram então enviados para empresa MacroGen Inc. (Coreia do Sul) onde foram conduzidas as reações de purificação e sequenciamento num sequenciador ABI 3730XL.

Utilizamos o programa Sequencer 3.0 (Gene Codes, Ann Arbor, MI, USA) para avisualização dos cromatogramas, emparelhamento da fita 3'→5' com a fita 5'→3', leitura e edição das sequências. Para checar possíveis contaminações utilizamos o recurso do “Basic Local Alignment Search Tool” – BLAST (ALTSCHUL *et al.*, 1997). Alinhamos as sequências utilizando o algoritmo MUSCLE no programa MEGA6 (Tamura *et al.*, 2013) e corrigido a olho posteriormente.

ANÁLISE FILOGENÉTICA

As sequências alinhadas e os fragmentos concatenados no programa Sequence Matrix foram submetidos à análise de parcimônia no programa TNT (Goloboff *et al.*, 2008). Gaps foram tratados como dados faltantes. O algoritmo utilizado para a busca de árvores mais parcimoniosas foi New Technology, com nível de busca ajustado para 50 e as definições

default de “Sectorial Search”, “Drift” e Tree-“Fusing” (GOLOBOFF, 1999). As buscas cessaram quando o comprimento mínimo da árvore foi encontrado por quatro vezes e o consenso estrito foi calculado.

O suporte foi calculado através de reamostragem por Jackknife (veja Farris *et al.*, 1996). Produzimos 1000 pseudorréplicas a partir da árvore consenso estrito, usando os mesmos parâmetros utilizados anteriormente, através do New Technology para busca de árvores mais parcimoniosas.

MORFOLOGIA EXTERNA E BIOACÚSTICA

A análise da morfologia externa foi baseada nos caracteres descritos por Heyer (1973, 1989). Para análise da variação morfológica utilizamos o CRC (comprimento rostro-cloacal) e, adicionalmente, para descrição do holótipo de *A. marmorata* utilizamos o CC (comprimento da cabeça), LC (largura da cabeça), DO (diâmetro do olho), DT (diâmetro do tímpano), DON (diastância olho-narina), DIN (distância internasal), DIO (distância interorbital), CF (comprimento do fêmur), TIB (comprimento da tíbia), TAR (comprimento do tarso). As medidas foram obtidas utilizando um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm (Mitutoyo), exceto para as medidas DO, DT, DON, DIN e DIO, que foram obtidas através do uso de uma ocular milimetrada acoplada no estereomicroscópio. Para descrição do girino de *A. bokermanni* utilizamos as seguintes medidas baseadas em Altig e McDiarmid (1999): CT (comprimento total), CC (comprimento da cabeça), CCa (comprimento da cauda), AMC (altura máxima da cauda), AMuC (altura do músculo da cauda), LMC (largura do músculo da cauda), AC (altura do corpo), LC (largura do corpo), LCN (largura do corpo na altura das narinas), LCO (altura do corpo na altura dos olhos), DIN (distância internasal),

DIO (distância interorbital), DFN (distância focinho-narina), DFO (distância focinho-olhos), DON (distância olho-narina), DN (diâmetro da narina), LDO (largura do disco oral, DO (diâmetro do olho). As medidas do girino foram feitas com o software ImageTool (version 3.00). Para a obtenção das fotos usadas nas medidas foi utilizada uma câmera digital acoplada a um stereomicroscópio.

Para as gravações dos cantos utilizamos um gravador digital Marantz Professional modelo PMD-660, amostrando 44,1 kHz e um microfone unidirecional Sennheiser ME-66. Oscilogramas e espectogramas foram confeccionados no programa Raven Pro 64 1.4 nos seguintes parâmetros: *window size* = 256 amostras, 75% de sobreposição; *hop size* = 64 amostras, *DFT* = 1024 amostras; e para os parâmetros *window type Hanning*, resolução, contraste e brilho utilizamos os parâmetros *default* do programa. Para ilustrar os espectogramas e oscilogramas utilizamos os pacotes TuneR versão 1.0 (Ligges *et al.* 2013) e Seewave versão 1.7.3 (Sueur *et al.* 2008) da plataforma R (versão 3.0.3). Os espectogramas foram obtidos utilizando *window length* de 128 samples com 75% de sobreposição, *hop size* de 64 amostras, e *window name* Hanning. O material testemunho foi depositado na Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e na Coleção Célio Fernando Baptista Haddad (CFBH; apêndice 2). Os seguintes parâmetros foram analisados: duração da nota (variação temporal do início ao final da nota, medida no oscilograma) e frequência dominante (= *peak frequency*). Analisamos 20 cantos de cada indivíduo.

Indivíduos gravados foram incluídos na análise de morfologia externa e na análise filogenética. O material analisado para morfologia, bioacústica e os fragmentos amplificados de cada tecido estão listados no Apêndice 2. As siglas das coleções científicas seguem: CFBH e CFBHt – Coleção Célio Haddad (exemplares e tecidos, respectivamente), UFMG e UFMGt

– Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Minas Gerais (exemplares e tecidos, respectivamente), MNRJ – Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, e as de números de campo: BB – número de campo Bianca Berneck, PPGT – número de campo Pedro Paulo Goulart Taucce, CCT, CC e CV – número de campo dos tecidos de Carla Cassini, K – número de campo de Carlos Eduardo Conte, MZUSPfield – número de campo do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.

DELIMITAÇÃO ESPECÍFICA

Tomando como hipóteses as espécies candidatas levantadas por Fouquet *et al.* (2014), delimitamos as espécies do gênero *Adenomera* dentro dos clados Thomei e Marmorata, adicionando mais amostras genéticas à análise filogenética, dados de morfologia externa e bioacústica. Buscamos identificar o menor indivíduo histórico delimitando o ponto do limite específico na análise filogenética onde as propriedades dos indivíduos contemporâneos se diluem (Kluge, 1990; Grant, 2002). Em última instância, o indivíduo histórico requer caracteres diagnósticos e a análise filogenética facilita sua descoberta (Grant *et al.*, 2006). Na tentativa de estabelecer um critério operacional objetivo, consideramos:

1 – a topologia do cladograma obtido na análise filogenética envolvendo as populações das espécies candidatas e;

2 – identificar ao menos uma característica fenotípica diagnóstica; ou uma evidência de separação de linhagens evolutivas distintas do seu grupo irmão.

RESULTADOS

ANÁLISE FILOGENÉTICA

A análise de parcimônia resultou em 20 árvores ótimas (igualmente parcimoniosas) de 18312 passos a partir da qual foi calculada a árvore consenso estrito (Figura 1 e 2). A busca pelas árvores mais parcimoniosas levou 103,97 segundos e a reamostragem durou aproximadamente 21 horas (76.083,81 segundos).

A árvore foi enraizada em Centrolenidae e não recuperamos a monofilia de Leiuperinae com respeito à *Pseudopaludicola falcipes*. A maioria dos nós envolvendo os outgroups apresentou altos valores de Jackknife. O clado *Hydrolaetare* + *Leptodactylus* foi recuperado como grupo irmão do clado *Lithodythes* + *Adenomera* com alto valor de suporte (100%). O gênero *Adenomera* foi recuperado com valor de 100% de jackknife (Figura 2). Não foi possível reconstruir os relacionamentos basais dentro do gênero *Adenomera* a partir da topologia da árvore de consenso estrito obtida. Não obstante, recuperamos os clados Andreae, Lutzi, Heyeri, Martnezi, Hylaedactyla, Marmorata e Thomei. O clado Thomei foi recuperado como grupo irmão do clado Marmorata no consenso estrito (= clado Mata Atlântica sensu Fouquet *et al.*, 2014), porém com valor de 90 de jackknife (Figura 2).

Subdividimos o clado Marmorata em dois subgrupos: clado Marmorata Norte e Clado Marmorata Sul (Figuras 1 e 2). O clado Marmorata Norte, recuperado com valor de 100% de Jackknife, é composto por cinco espécies candidatas distribuídas na região central da Mata Atlântica (Figura 3c, 3d e 4): *A. ajurauna*, *A. sp. S*, *A. sp. K*, *A. sp. J* e *A. marmorata* (sensu Fouquet *et al.*, 2014). O clado Marmorata Sul, recuperado com valor de 86% de Jackknife é composto por sete espécies candidatas distribuídas na região centro-sul da Mata Atlântica

(Figuras 3b e 4): *A. sp. O*, *A. sp. R*, *A. araucaria*, *A. sp. N*, *A. nana*, *A. engelsi*, *A. bokermanni*.

A variação genética dentro de cada espécie candidata é apresentada na Tabela 1 e as distâncias genéticas entre as espécies candidatas são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 1. Variação intraespecífica de parte dos genes mitocondriais COI e 16S. Porcentagem (%) de bases diferentes por sítio (p-distance) dentro de cada espécie candidada (sensu Fouquet et al, 2014). A matriz de dados é composta 430 sequências de COI com 374 pb e 130 sequências de 16S com 350 pb.

	COI	16S
<i>Adenomera sp. L</i>	0,7	0,0
<i>A. sp. M</i>	2,0	2,0
<i>A. thomei</i>	4,9	2,5
<i>A. sp. R</i>	3,1	0,0
<i>A. araucaria</i>	5,6	2,3
<i>A. sp. O</i>	3,6	2,1
<i>A. bokermanni</i>	3,3	1,2
<i>A. nana</i>	2,9	1,4
<i>A. engelsi</i>	0,9	0,5
<i>A. sp. N</i>	1,5	0,0
<i>A. ajurauna</i>	4,9	2,1
<i>A. sp. S</i>	2,1	1,3
<i>A. sp. K</i>	2,6	2,4
<i>A. sp. J</i>	3,6	1,2
<i>A. marmorata</i>	4,3	2,3

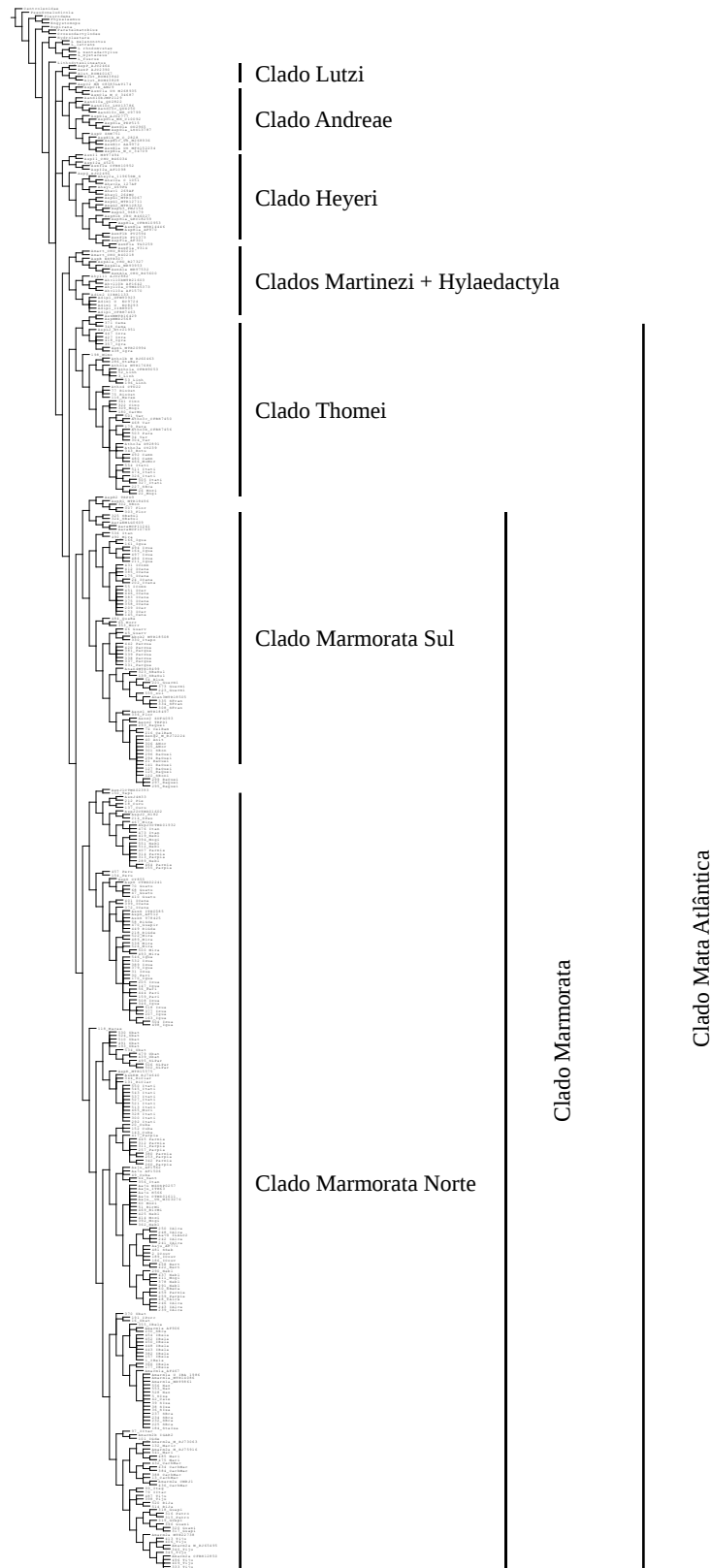


Figura 1. Árvore filogenética de consenso estrito resumida obtida a partir das 20 árvores mais parcimoniosas.

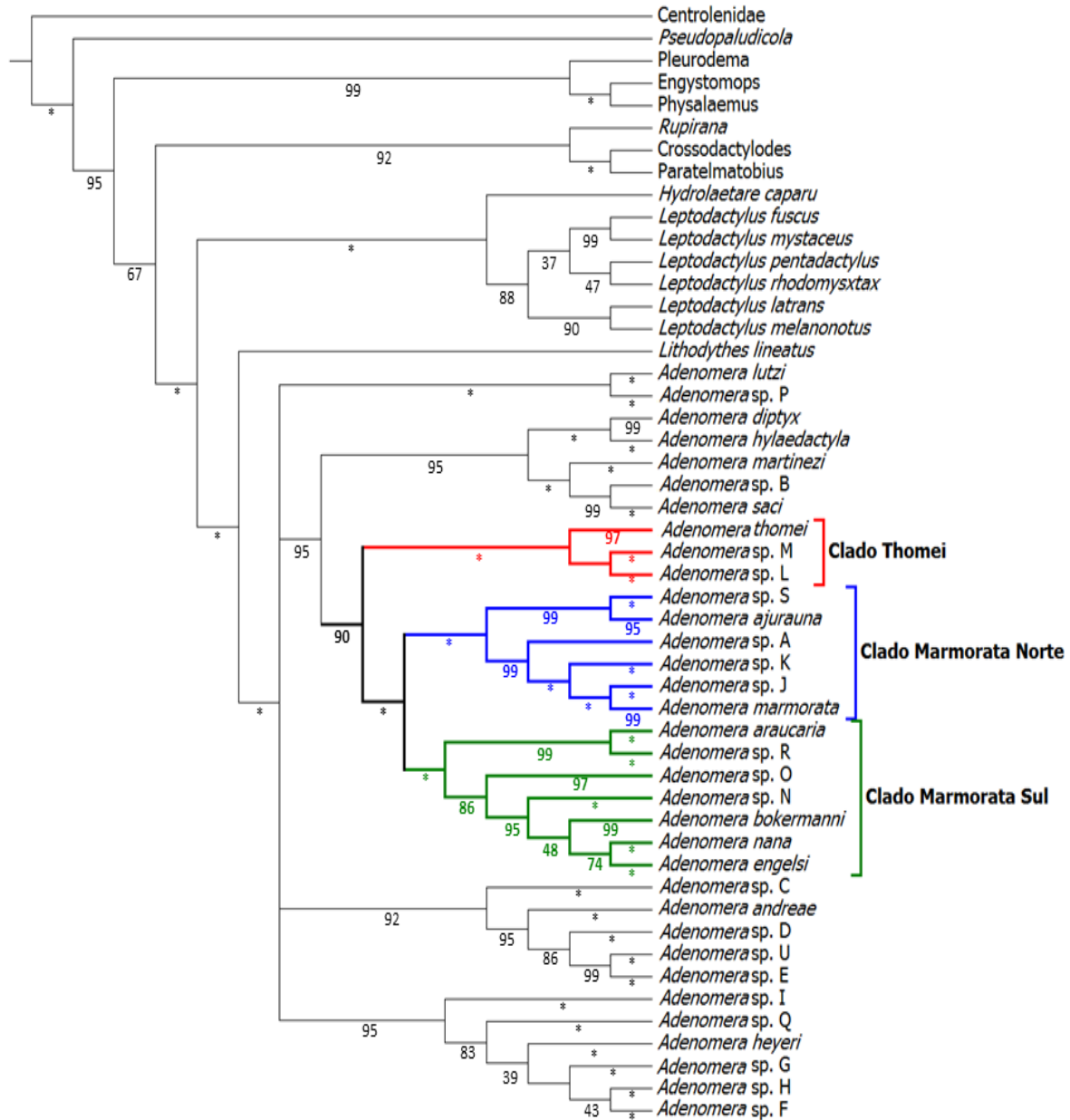


Figura 2. Árvore filogenética de consenso estrito resumida obtida a partir das 20 árvores mais parcimoniosas. Valores abaixo dos nós mostram a frequência absoluta estimada de Jackknife utilizando TNT. Asteriscos (*) representam valores de 100% de Jackknife.

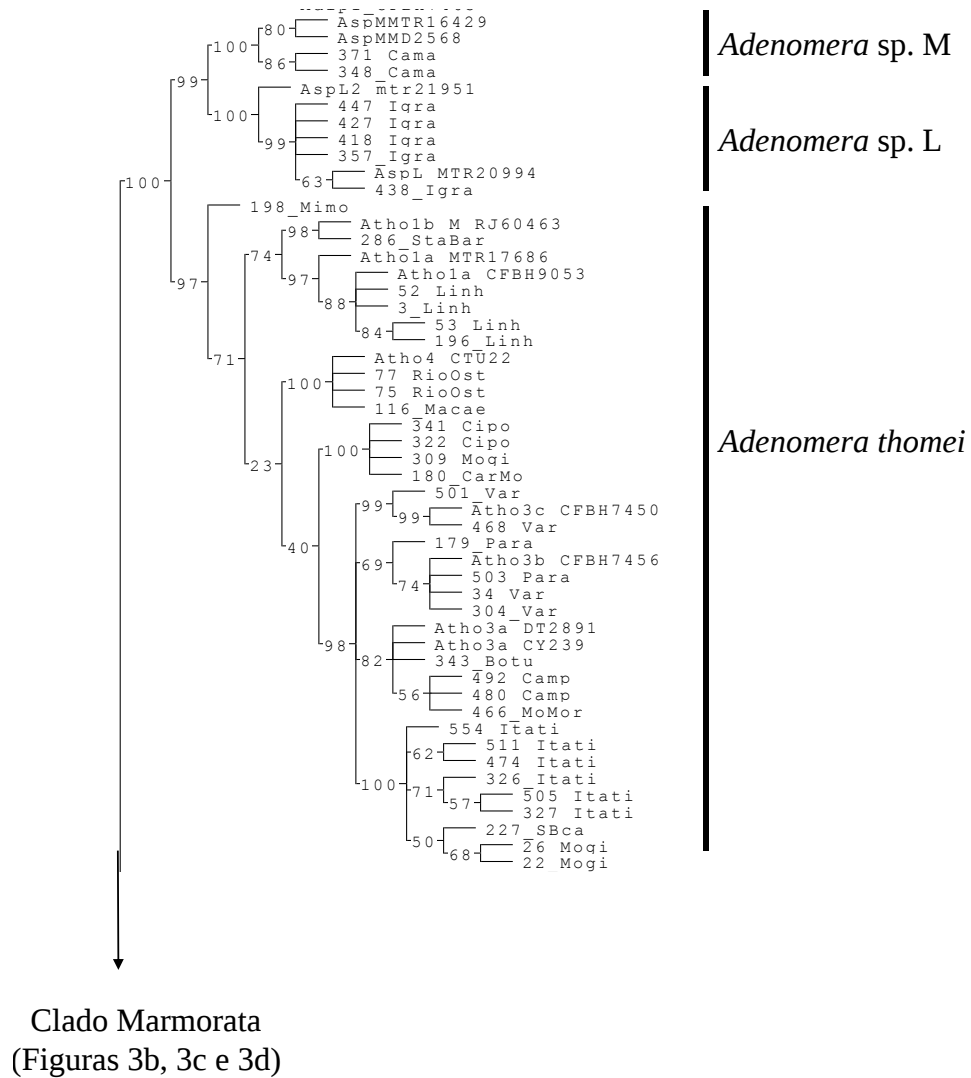


Figura 3a – Clado Thomei. Árvore filogenética de consenso estrito obtida a partir das 20 árvores mais parcimoniosas. Valores abaixo dos nós mostram a frequência absoluta estimada de Jackknife utilizando TNT.

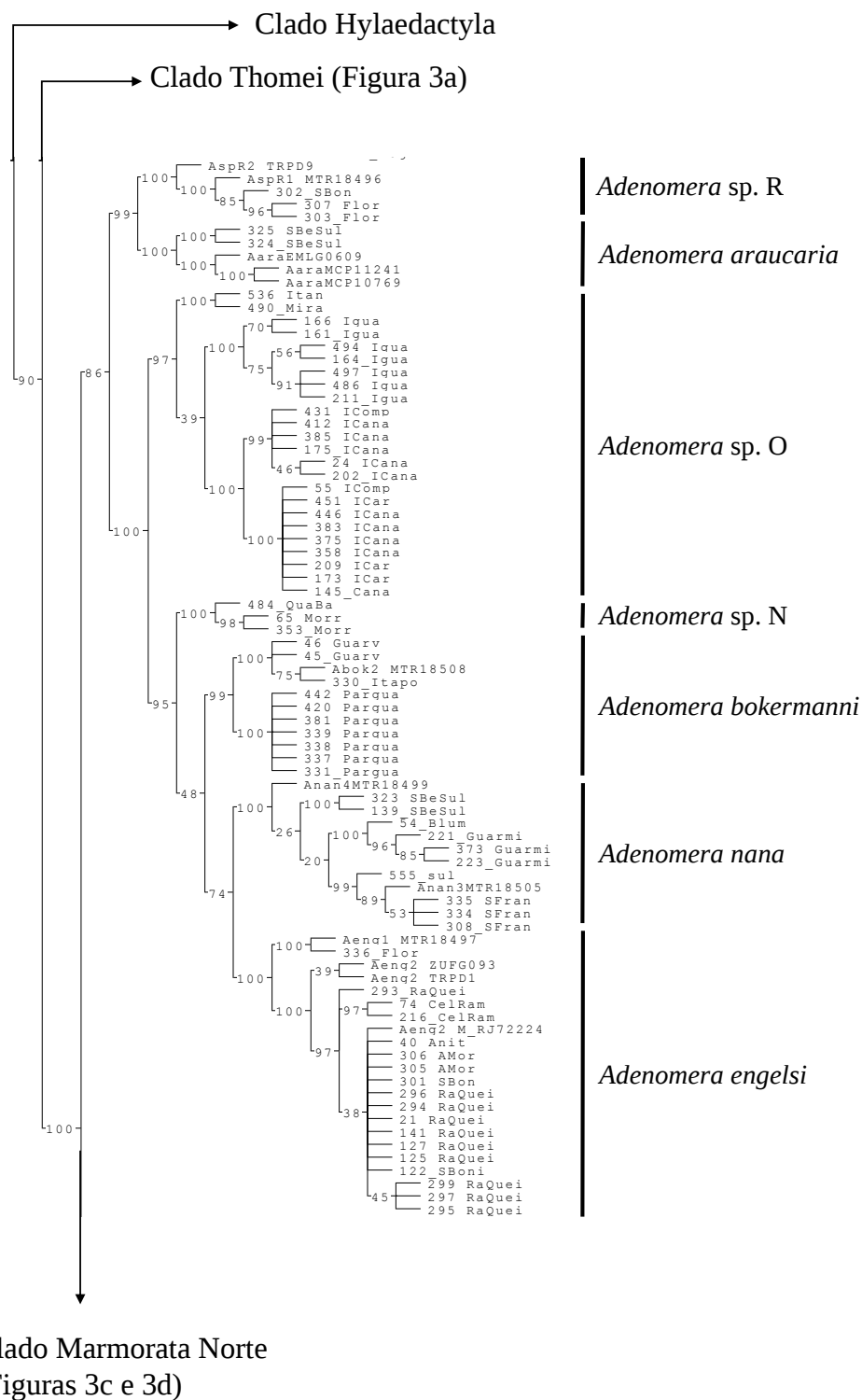


Figura 3b – Clado Marmorata Sul. Árvore filogenética de consenso estrito obtida a partir das 20 árvores mais parcimoniosas. Valores abaixo dos nós mostram a frequência absoluta estimada de Jackknife utilizando TNT.



Figura 3d – *Adenomera marmorata*, *Adenomera* sp. J, *Adenomera* sp. K e *Adenomera* sp. A. Árvore filogenética de consenso estrito obtida a partir das 20 árvores mais parcimoniosas. Valores abaixo dos nós mostram a frequência absoluta estimada de Jackknife utilizando TNT.

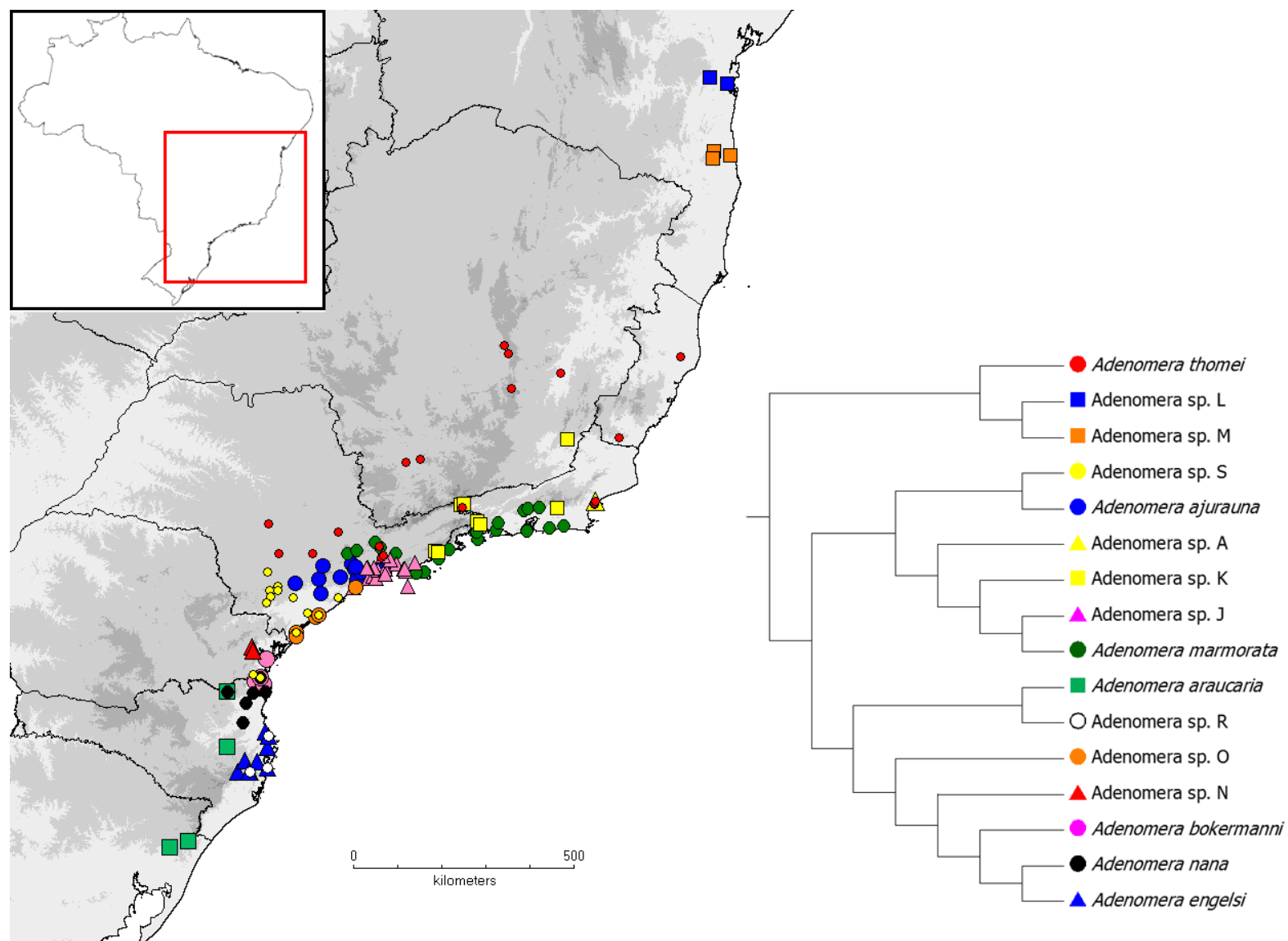


Figura 4. Mapa de distribuição das espécies candidatas do clado Mata Atlântica.

Tabela 2. Distâncias genéticas (p-distance, em porcentagem %) entre as espécies candidatas de *Adenomera* (sensu Fouquet *et al.*, 2014) para uma parte de dois genes mitocondriais: em azul acima da diagonal - COI (430 sequências com 374 pb); e em amarelo abaixo da diagonal - 16S (130 sequências com 350 pb).

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
Clado Lutzi	1 <i>Adenomera lutzi</i>		11,2	14,3	17,5	15,4	16,8	15,2	15,6	15,2	15,9	16,5	16,6	15,7	14,3	16,0	15,6	14,9	13,9	14,0	12,8	13,9	12,9	16,1	14,5	13,2	14,0	16,0	15,4	15,5	16,3	16,1	15,8
	2 <i>A. sp. P</i>	10,0		12,4	17,5	15,4	17,0	14,6	14,2	16,4	15,9	15,5	16,3	18,3	15,6	16,7	15,5	15,7	16,6	15,4	13,0	15,2	13,6	13,7	13,4	13,9	14,4	17,6	15,1	15,4	17,3	16,0	16,1
Clado Heyeri	3 <i>A. sp. I</i>	11,4	14,0		17,6	13,9	14,9	13,5	14,0	17,1	16,8	16,5	14,0	17,0	14,1	16,8	15,7	13,9	12,8	13,7	14,9	14,5	15,1	14,9	16,0	15,2	15,3	14,9	13,6	16,2	16,1	15,8	15,7
	4 <i>A. sp. Q</i>	9,7	14,2	11,7		19,9	18,9	17,9	17,8	15,5	16,4	18,9	17,8	17,1	16,1	18,1	19,3	19,5	18,5	18,6	20,3	18,3	19,8	18,7	19,2	18,0	18,4	20,6	18,0	20,3	23,2	20,1	21,0
	5 <i>A. heyeri</i>	8,3	12,8	7,1	9,1		17,7	15,7	16,6	18,1	19,8	19,8	17,6	19,8	18,7	18,9	15,6	17,7	17,8	16,2	16,3	15,8	15,7	18,0	17,3	17,4	17,8	14,8	18,7	18,0	15,4	17,0	16,3
	6 <i>A. sp. G</i>	10,3	14,5	10,0	10,5	8,5		12,6	12,7	18,2	19,0	19,3	16,7	19,5	19,1	19,3	19,8	15,4	15,1	15,9	17,2	16,7	16,4	16,4	17,5	17,2	16,9	17,6	16,4	17,4	17,9	17,7	17,8
	7 <i>A. sp. H</i>	10,0	12,0	12,0	11,4	10,0	8,5		12,1	17,2	17,9	17,3	13,8	18,2	17,1	18,4	16,5	16,9	15,6	16,2	15,9	17,4	15,1	16,3	15,7	15,6	15,8	16,3	14,9	16,1	18,8	17,2	17,4
	8 <i>A. sp. F</i>	8,5	13,1	10,0	9,4	7,1	5,4	6,8		18,6	19,1	18,8	17,2	19,8	17,4	17,9	17,1	17,1	14,8	15,8	15,5	15,4	15,5	15,9	15,8	16,1	15,5	16,0	15,5	17,2	17,8	15,8	16,8
Clado Andreae	9 <i>A. andreae</i>	12,0	16,5	10,8	13,7	9,7	12,5	14,5	11,7		10,9	14,5	17,5	20,3	17,5	19,6	17,3	16,6	17,9	17,9	16,1	17,7	15,7	17,8	17,8	16,4	15,5	19,0	19,9	20,5	19,5	18,5	17,6
	10 <i>A. sp. D</i>	11,7	16,0	11,7	13,1	8,3	13,4	14,5	11,7	5,4		13,9	15,3	19,1	16,2	17,8	17,0	17,6	17,3	18,6	17,1	18,4	16,4	18,0	17,3	17,3	15,1	18,0	17,5	18,0	19,1	18,6	17,9
	11 <i>A. sp. E</i>	12,0	15,4	10,5	13,1	8,3	12,5	14,2	11,4	4,3	2,3		16,3	18,9	17,1	17,2	16,1	19,3	19,3	17,7	16,7	17,9	16,7	18,0	18,1	16,9	16,2	16,5	17,0	15,0	17,8	18,4	18,5
Clado Martinezi	12 <i>A. martinezi</i>	8,8	13,7	8,8	10,5	7,7	8,3	11,4	6,8	8,8	8,8	8,3		13,5	12,2	14,8	14,3	15,9	12,7	14,8	16,2	16,8	13,8	16,2	15,4	15,2	16,0	15,5	15,2	16,4	18,9	16,8	17,1
	13 <i>A. sp. B</i>	9,7	14,5	9,1	10,8	9,4	10,3	11,7	9,4	12,8	11,4	10,8	7,1		10,0	15,3	16,9	16,3	16,8	16,4	17,1	17,1	15,6	15,9	16,3	16,1	17,2	17,1	15,7	17,1	18,3	15,8	17,0
	14 <i>A. saci</i>	10,1	13,2	9,5	11,1	7,8	9,4	11,5	8,4	12,1	11,4	11,0	7,7	8,3		15,9	15,9	15,2	14,1	14,0	15,0	16,1	14,6	15,1	15,6	15,0	14,9	15,7	14,7	17,2	18,3	16,3	16,6
	15 <i>A. hylaedactyla</i>	7,1	13,7	11,1	10,0	9,1	11,1	11,7	9,7	12,3	11,4	11,4	9,4	9,4	10,5		11,2	16,7	16,7	15,3	16,5	15,7	16,6	16,7	15,4	15,6	16,3	16,1	16,6	16,5	16,9	17,5	17,0
	16 <i>A. diptyx</i>	7,1	12,0	9,7	9,4	8,5	9,4	10,8	7,7	10,0	9,4	8,3	7,4	7,4	8,3	7,1		17,8	16,5	15,0	14,3	12,8	14,6	15,5	14,3	13,8	14,1	14,5	15,8	15,2	15,2	16,2	16,1
Clado Thomei	17 <i>A. sp. L</i>	9,4	13,7	10,0	10,5	9,4	10,8	13,1	10,5	9,7	11,4	10,0	9,7	9,1	9,3	10,5	7,4		9,4	10,0	15,0	14,0	13,5	14,8	15,5	14,8	13,3	14,2	13,5	17,2	17,5	16,8	16,1
	18 <i>A. sp. M</i>	8,5	13,1	10,7	11,7	9,0	11,0	12,4	9,5	10,7	10,4	9,3	9,0	8,7	8,7	8,8	6,1	4,7		9,7	14,9	13,9	14,0	14,5	15,5	15,4	14,6	14,3	13,3	16,6	16,8	16,2	16,0
	19 <i>A. thomei</i>	8,4	11,8	10,0	10,8	8,2	9,1	11,1	8,6	10,6	9,7	8,8	8,1	8,4	7,7	10,0	6,0	6,4	5,3		14,1	12,8	13,2	14,9	14,9	14,1	14,6	14,1	13,1	15,6	15,2	15,9	15,6
Clado Marmorata Sul	20 <i>A. sp. R</i>	9,7	12,5	8,3	11,7	8,5	7,7	10,3	7,4	10,3	11,7	10,5	7,7	8,5	7,4	10,3	7,4	6,6	7,5	6,5		9,6	10,2	11,4	10,1	11,1	10,1	13,6	13,5	15,0	12,6	14,7	14,5
	21 <i>A. araucaria</i>	9,7	12,5	9,7	11,7	9,1	8,5	9,7	7,8	11,8	12,0	11,7	10,1	10,1	8,2	10,0	8,7	8,5	8,5	7,3	3,7		9,7	11,5	11,2	9,7	10,3	13,0	12,5	12,7	11,8	14,7	12,9
	22 <i>A. sp. O</i>	10,9	13,3	10,3	12,3	9,2	10,3	10,9	8,8	11,7	11,1	9,6	8,9	9,7	8,9	11,3	8,1	9,3	7,9	7,1	5,0	6,7		9,6	9,0	7,8	8,4	11,7	12,6	14,2	12,7	14,4	14,3
	23 <i>A. bokermanni</i>	10,1	12,7	9,8	11,9	9,5	9,4	10,1	9,1	10,5	10,6	9,4	8,5	9,2	8,7	10,5	8,0	7,8	7,3	6,6	3,9	5,4	3,4		8,8	7,4	9,1	12,8	12,5	13,4	14,3	13,5	14,0
	24 <i>A. nana</i>	10,4	12,8	9,3	11,9	9,7	10,0	10,8	9,3	9,8	10,7	9,2	9,1	9,7	8,8	9,8	7,8	7,0	6,8	7,0	4,4	5,9	4,3	2,5		7,4	8,0	12,0	12,5	14,6	13,7	12,6	13,3
	25 <i>A. engelsi</i>	10,4	12,3	10,0	11,0	8,7	10,4	11,4	9,3	12,8	11,3	11,0	10,6	10,3	9,1	11,2	8,5	9,0	8,1	7,7	7,0	7,4	6,7	6,4	6,0		7,4	11,4	11,4	13,1	13,9	14,3	13,1
	26 <i>A. sp. N</i>	9,7	12,3	10,0	11,4	8,0	10,3	10,3	8,5	11,4	9,7	9,7	9,4	9,7	8,1	10,3	8,3	8,3	7,0	6,3	4,6	5,0	2,9	2,4	3,0	4,8		10,3	10,4	11,9	12,1	10,8	10,5
Clado Marmorata Norte	27 <i>A. ajurauna</i>	9,7	12,4	9,5	13,4	9,7	9,5	11,5	9,2	10,8	11,9	10,8	8,4	9,7	7,6	11,2	7,4	8,9	7,5	5,8	5,2	5,9	7,0	6,4	6,3	7,8	6,2		9,6	10,7	11,2	11,5	11,5
	28 <i>A. sp. S</i>	10,3	12,6	9,5	11,6	9,3	8,4	10,1	7,9	10,1	10,9	9,2	8,4	8,1	7,5	10,8	7,0	8,1	7,4	5,6	5,2	6,6	6,9	6,3	6,1	7,1	6,5	4,8		10,4	12,2	12,1	10,6
	29 <i>A. sp. A</i>	10,8	13,7	10,5	11,4	8,3	9,4	12,3	8,5	13,1	12,0	11,7	8,8	10,0	4,7	11,7	8,8	10,3	9,1	8,5	8,3	8,4	9,3	9,0	9,3	8,4	7,4	7,7	7,5		11,7	12,5	12,4
	30 <i>A. sp. K</i>	9,5	13,0	9,9	11,7	7,9	8,8	10,3	8,0	11,0	10,8	10,4	8,5	9,2	7,0	10,1	8,0	8,2	6,7	5,7	5,6	5,5	7,1	6,0	5,9	6,6	5,5	4,7	4,6	6,8		9,8	9,0
	31 <i>A. sp. J</i>	10,3	13,0	9,4	11,9	9,0	9,4	10,7	8,4	10,9	11,6	11,0	8,4	9,3	7,0	10,7	7,8	7,8	7,0	6,6	4,2	5,9	6,6	5,1	4,8	6,0	4,7	4,5	4,8	6,2	3,8		8,2
	32 <i>A. marmorata</i>	10,6	13,0	10,9	12,2	9,0	10,3	11,1	8,5	12,2	11,8	11,1	9,2	9,1	7,6	10,5	8,4	8,3	7,3	6,7	5,7	6,3	7,3	6,1	6,1	7,1	5,2	5,8	5,3	6,7	4,5	4,4	

ANÁLISE ACÚSTICA E MORFOLÓGICA

Todas as espécies delimitadas aqui apresentam as seguintes variações morfológicas intraespecíficas: i) padrão de coloração dorsal marmoreados com muitas ou poucas manchas marrom escuras, com ou sem faixas longitudinais, com ou sem linha medial dorsal; ii) presença ou ausência de tubérculos dorsais; iii) formato de focinho elíptico e sub-elíptico; iv) padrão de coloração da gula clara, com manchas marrom escuras esparsas ou concentradas lateralmente; v) regiões internas da coxa (medial e lateral) listrada, com manchas esparsas ou em padrão reticulado; vi) região ventral da coxa uniformemente creme ou amarela, apresentando ou não manchas ou um padrão reticulado; vii) presença ou ausência de mancha avermelhada ou creme no calcanhar. Algumas destas variações são ilustradas nas Figuras 5 e 6. Caracteres morfológicos que apresentaram variação interespecífica foram: formato da ponta dos dedos dos pés, padrão de coloração lateral, presença de tubérculos na tíbia (este último variou em algumas espécies). O padrão do desenho interorbital é polimórfico em algumas espécies e constante em outras. Não obstante, todos os indivíduos apresentaram glândula comissural bem desenvolvida em machos e fêmeas e glândula próximo à região axilar em machos (tratada como glândula ectopeitoral daqui em diante, Figura 7). No segundo capítulo discutiremos sobre esta glândula encontrada nos indivíduos analisados.

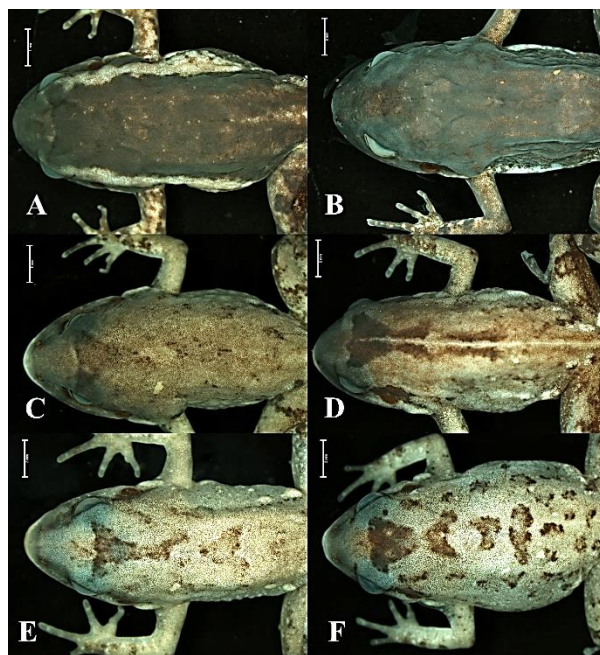


Figura 5. Variação encontrada no padrão dorsal em duas espécies. *Adenomera*. *Adenomera ajurauna*: **A** – com listras dorsolaterais; **B** – uniformemente escuro; **C** – com poucas manchas marrom escuras. *A. nana*: **D** – linha medial dorsal presente; **E** – com poucas manchas marrom escuras; **F** – com muitas manchas marrom escuras.

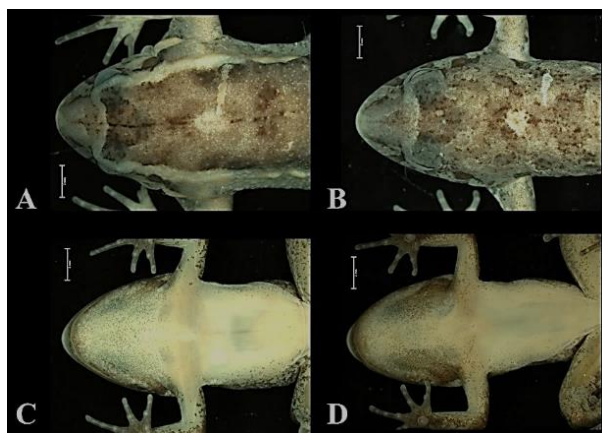


Figura 6. Variação encontrada em *Adenomera bokermanni*: **A** – dorso com tubérculos e focinho elíptico; **B** – dorso sem tubérculos e focinho subelíptico; e em *Adenomera* sp. S: **C** – gula com manchas marrom escuras esparsas e **D** – gula com manchas escuras concentradas lateralmente.

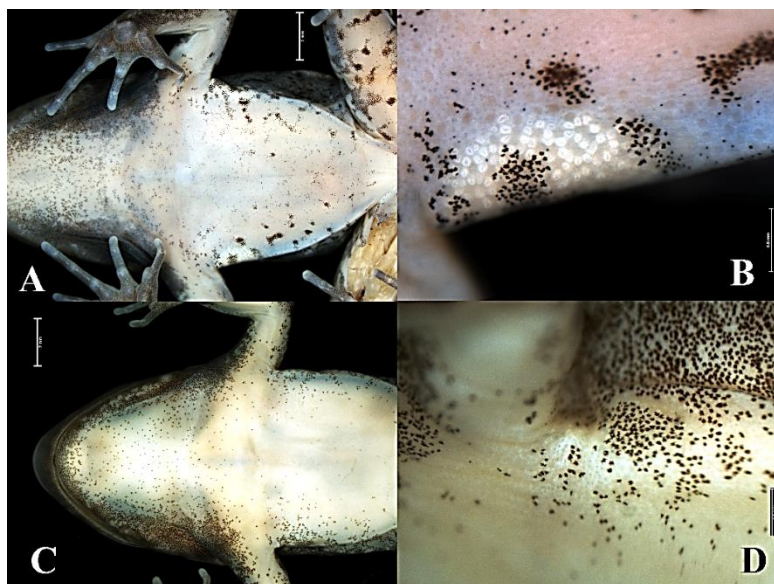


Figura 7. Glândula axilar encontrada nos indivíduos analisados. **A e B** – *Adenomera bokermanni* (CFBH 23217), glândula axilar entumecida; **C e D** – *Adenomera* sp. L (CFBH 32073), glândula axilar não entumecida.

Com base na análise filogenética, dados bioacústicos e padrões morfológicos encontrados, pudemos delimitar fenotipicamente as seguintes espécies a partir das hipóteses prévias de espécies candidatas propostas por Fouquet *et al.* (2014): *A. thomei*, *A. marmorata*, *A. ajurauna*, *A. sp. S*, *A. araucaria*, *A. sp. R*, *A. nana*, *A. engelsi*, *A. sp. N* e *A. bokermanni*, como é mostrado a seguir.

CLADO THOMEI

O Clado Thomei (*sensu* Fouquet *et al.*, 2014) é composto pelas espécies candidatas confirmadas *A. thomei* e *A. sp. M* e a espécie candidata não confirmada *A. sp. L* (Figuras 2 e 3a). Todas as espécies deste clado apresentam canto pulsionado (Figura 9).

Analizamos uma população da espécie *A. sp. L* do município de Igrapiúna – BA, uma população da espécie *A. sp. M* do município de Camacan – BA e quatro populações de *A. thomei* dos municípios de Botucatu – SP, Mogi das Cruzes – SP, Itatiaia – RJ e Santana do Riacho – MG, das quais indivíduos foram gravados e coletados para análise morfológica e filogenética. Adicionalmente, para fins comparativos, analisamos o canto de anúncio de três populações de *A. thomei* (Linhares – ES, Timóteo – MG e Poços de Caldas – MG) através de dados indiretos, ou seja, os dados acústicos não correspondem diretamente ao indivíduo analisado geneticamente, foi inferido nos terminais da árvore filogenética obtida das mesmas localidades.

As populações assinaladas filogeneticamente como *A. thomei* distinguem-se acusticamente principalmente quanto à duração do canto, embora a amplitude dos valores deste parâmetro apresente sobreposição entre as populações (Figura 8). Todos apresentam canto pulsionado, com duração entre 121 ms (Botucatu – SP) e 333 ms (Mogi das Cruzes-SP). A espécie candidata *A. sp. L* apresentou canto com duração entre 110ms e 172 ms e a espécie candidata *A. sp. M* apresentou canto de 115ms a 156ms de duração (Figura 8).

Através da análise dos dados acústicos indiretos, notamos que a duração dos cantos das populações de Poços de Caldas – MG, Timóteo – MG e Linhares – ES (localidade tipo de *A. thomei*) se assemelham muito à duração do canto da população de Botucatu – SP (*A. thomei*). Por outro lado, o canto de anúncio das espécies candidatas *A. sp. L* e *A. sp. M* são mais curtos (Figuras 8 e 10).

A frequência dominante da espécie *A. thomei* variou de 3445 Hz (Botucatu – SP) a 4687 Hz (Itatiaia – RJ). As espécies candidatas *A. sp. L* e *A. sp. M* apresentaram, respectivamente, frequência dominante variando de 3617 Hz a 4306 HZ (*A. sp. L*) e de 3445

Hz a 3617 Hz (*A. sp. M*) (Figuras 8 e 10). A variação da frequência dominante das populações de Timóteo – MG e Poços de Caldas – MG são semelhantes àquela variação encontrada nas demais populações de *A. thomei*, *A. sp. L* e *A. sp. M*. A população de Linhares – ES (*A. thomei*), apresenta frequência dominante muito maior do que as das demais populações (5263 Hz – 5442 Hz; Figura 6). A amplitude de modulação variou intra-individualmente, sendo altamente dependente da técnica de gravação (por exemplo, varia se usamos as entradas “line” ou “mic” do gravador) e pela distância do indivíduo gravado em relação ao microfone. Acusticamente, não é possível distinguir as espécies candidatas *A. thomei*, *A. sp. L* e *A. sp. M* entre si.

Uma das diagnoses morfológicas da espécie *A. thomei* é o padrão de mancha na região interorbital, constituído por duas manchas claras dentro do triângulo interorbital marrom escuro, lembrando o formato de uma máscara (Almeida e Angulo, 2006). Todos os indivíduos analisados de *A. thomei* apresentam triângulo interorbital com este padrão de máscara (*sensu* Almeida e Angulo, 2006), tubérculos na tíbia e glândula ectopeitoral não entumecida. A população de Camacan - BA (*A. sp. M*) apresentou uma quantidade maior de tubérculos na tíbia que as populações das espécies de *A. sp. L* e *A. thomei* (Figura 11). Em todas as populações de *A. thomei*, *A. sp. L* e *A. sp. M*, o padrão da máscara interorbital variou desde um formato de coração dentro do triângulo interorbital a um círculo adicional posterior às manchas que compõem a máscara (Figura 11). As espécies *A. thomei* e *A. sp. L* apresentaram um menor comprimento rostro clocal do que as populações de *A. sp. M* (Figura 12). As três espécies candidatas do clado apresentam as extremidades distais dos artelhos não expandidas.

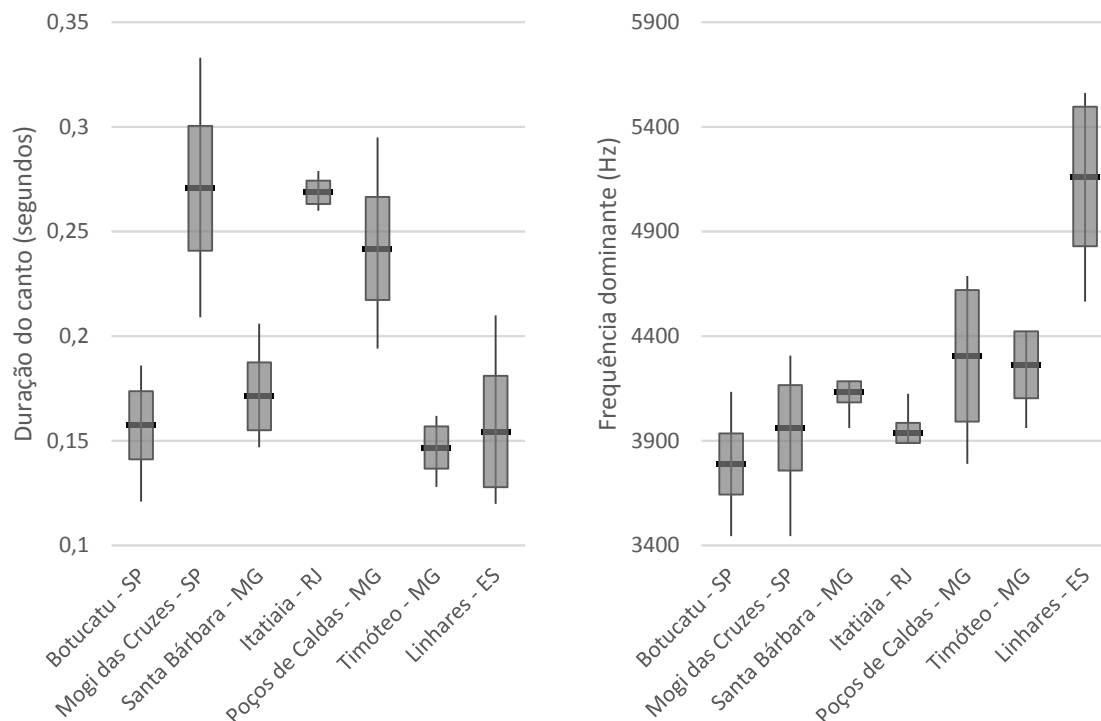


Figura 8. Variação acústica intrapopulacional em *Adenomera thomei*. Barra vertical = amplitude da variação observada (valores máximo e mínimo); Barra horizontal = média e mediana para duração e frequência dominante do canto, respectivamente; Retângulo vertical = média/mediana $\pm$ desvio padrão.

Exceto pelo tamanho corporal da espécie *A. sp. M* (Figura 10), nenhuma outra característica diagnóstica morfológica ou acústica foi encontrada para diferenciar as espécies do clado *Thomei* entre si. Considerando que os dados acústicos não separam *A. thomei* de *A. sp. M* e que *A. thomei* e *A. sp. L* não são distinguíveis entre si, consideraremos que o valor de CRC dos dois indivíduos de *A. sp. M* representa uma variação da espécie *A. thomei*. Assim, consideramos que as espécies candidatas *A. sp. L* e *A. sp. M* (sensu Fouquet *et al.*, 2014) correspondem a *A. thomei*.

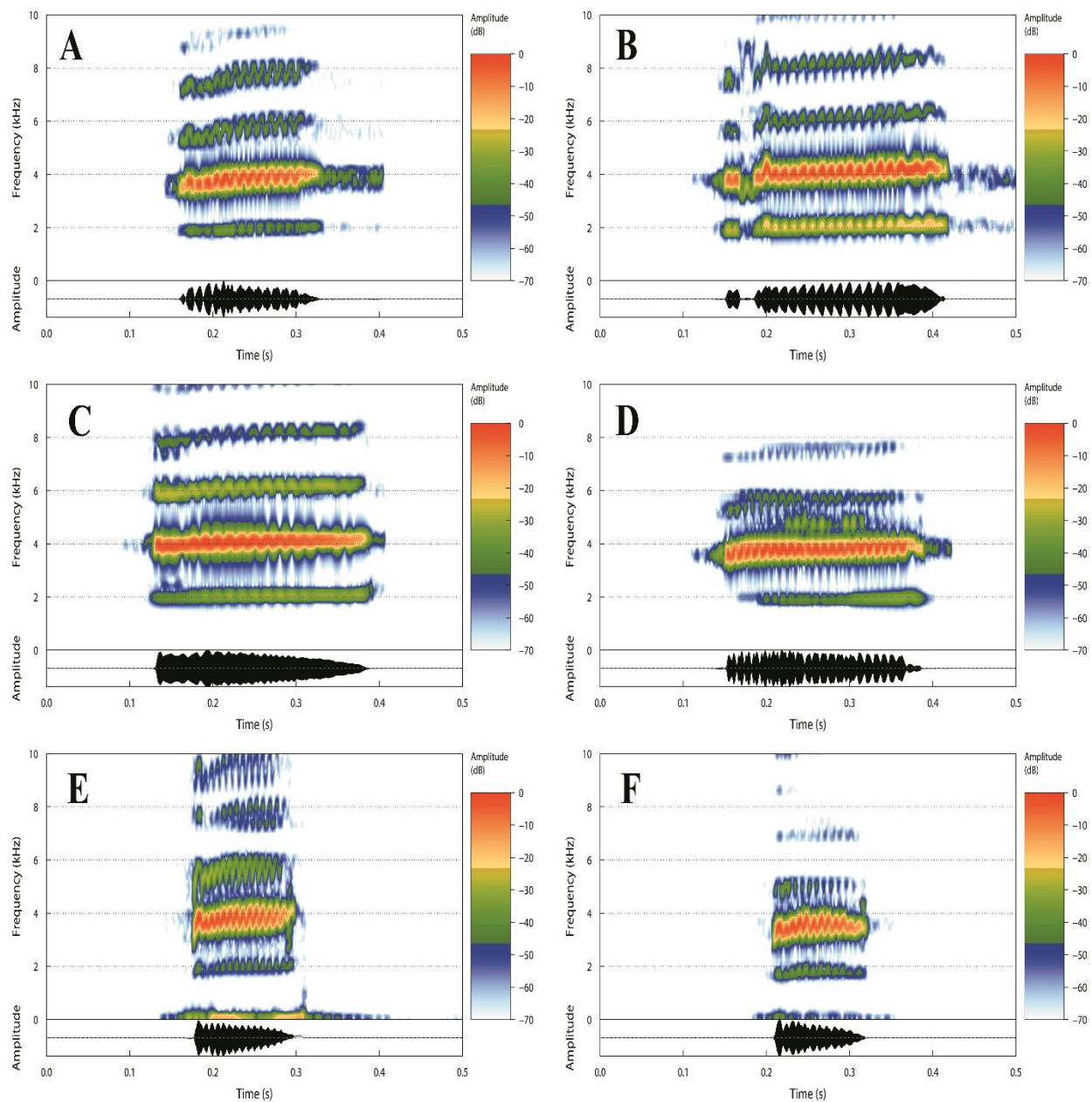


Figura 9. Cantos de anúncio das espécies do clado Thomei. Sonograma (acima, em cores) e oscilograma (abaixo, em preto) de *Adenomera thomei* dos municípios de: **A** – Botucatu, SP; **B** – Mogi das Cruzes, SP; **C** – Santana do Riacho, MG; **D** – Itatiaia, RJ; de **E** – *Adenomera* sp. L do município de Igrapiúna, BA e de **F** – *Adenomera* sp. M do município de Camacan, BA.

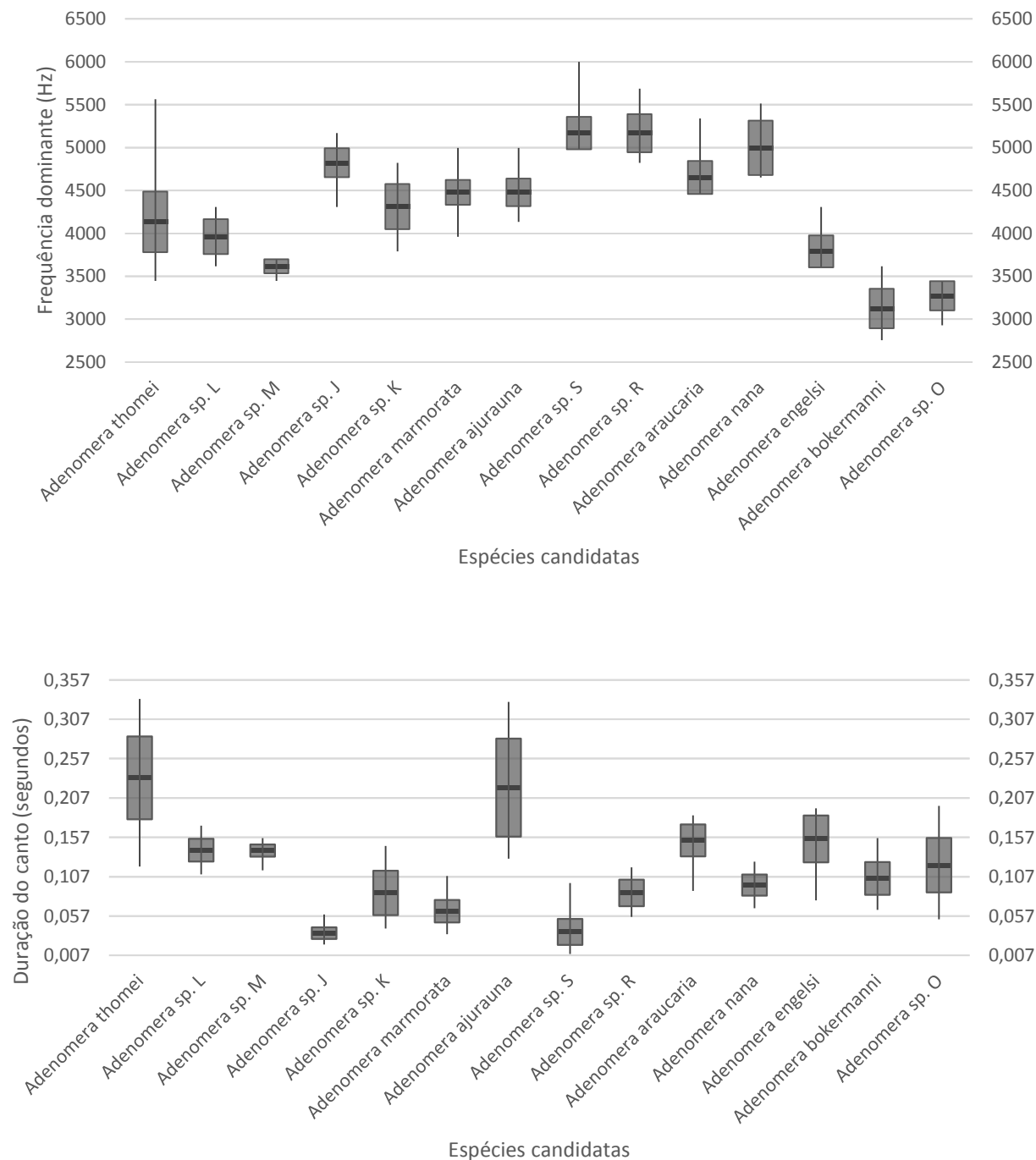


Figura 10. Variação acústica entre as espécies candidatas. Barra vertical = amplitude da variação observada (valores máximo e mínimo); Barra horizontal = média e mediana para duração e frequência dominante do canto, respectivamente; Retângulo vertical = média/mediana $\pm$ desvio padrão.

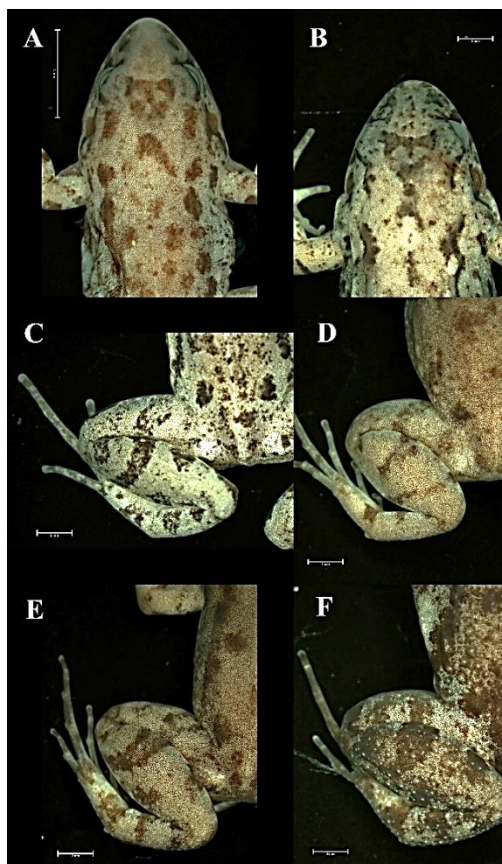


Figura 11. Variação morfológica do clado Thomei. Variação no padrão da máscara interorbital em *Adenomera thomei*: **A** – CFBH 29532, Linhares, ES (localidade tipo da espécie); **B** – CFBH 5969, Linhares, ES. Variação na quantidade de tubérculos na tíbia: **C** – *Adenomera thomei*, CFBH 34413, Botucatu, SP; **D** – *Adenomera* sp. L, CFBH 32072, Igrapiúna, BA; **E** – *Adenomera* sp. L, CFBH 32073, Igrapiúna, BA; **F** – *Adenomera* sp. M, CFBH 32101, Camacan, BA.

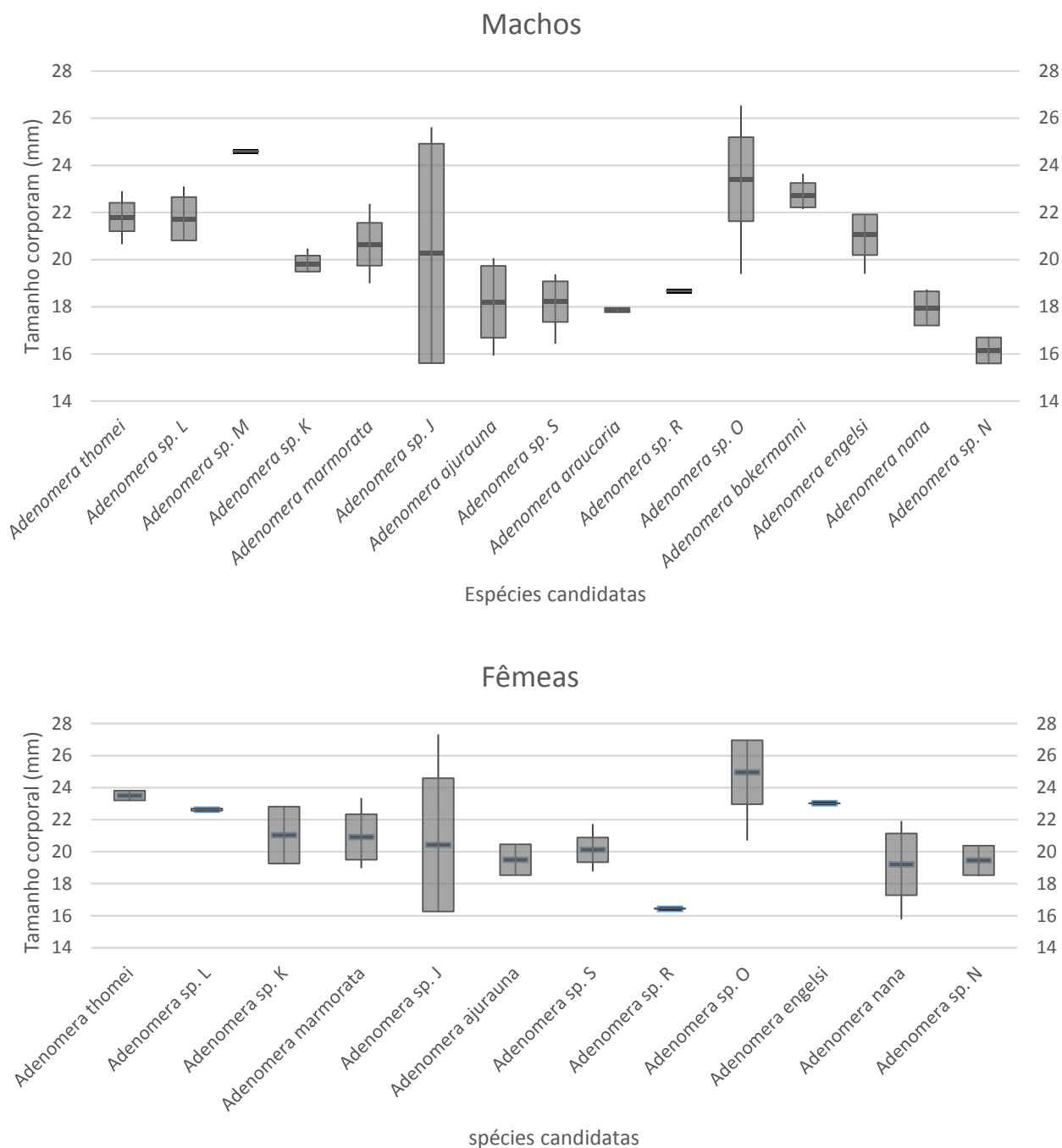


Figura 12. Variação no tamanho do comprimento rostro cloacal (CRC) entre machos (acima) e fêmeas (abaixo) das espécies candidatas dos clados Thomei e Marmorata. Barra vertical = amplitude da variação observada (valores máximo e mínimo); Barra horizontal = média e mediana para duração e frequência dominante do canto, respectivamente; Retângulo vertical = média/mediana $\pm$ desvio padrão.

CLADO MARMORATA NORTE

O Clado Marmorata Norte é definido por seis espécies candidatas confirmadas (*sensu* Fouquet *et al.*, 2014): *A. ajurauna*, *A. sp. S*, *A. sp. A*, *A. sp. K*, *A. sp. J* e *A. marmorata*. Analisamos a morfologia externa e os parâmetros acústicos de indivíduos representantes de todas as espécies, exceto por *A. sp. A* (da qual apenas analisamos a morfologia). Todas as espécies deste clado apresentam canto não-pulsionado (Figuras 13 e 18).

ADENOMERA AJURAUNA E *A. sp. S*

Adenomera ajurauna e *A. sp. S* foram recuperadas como espécies irmãs na nossa análise filogenética (Figuras 1, 2 e 3c). Analisamos a morfologia externa e a bioacústica de quatro populações de *A. ajurauna* dos municípios de Mogi das Cruzes – SP (Parque das Neblinas, localidade tipo da espécie), Paranapiacaba, Santo André – SP, São Paulo – SP e Miracatu – SP. Os cantos de anúncio de *A. ajurauna* analisados não são pulsionados e apresentam modulação de frequência ascendente, com duração entre 130 ms (São Paulo – SP) e 330 ms (Paranapiacaba, Santo André – SP). A frequência dominante variou de 4134 Hz (São Paulo – SP) a 4995 Hz (Mogi das Cruzes – SP) (Figuras 11 e 12).

Analisamos três populações da espécie candidata *A. sp. S* (irmã de *A. ajurauna*), dos municípios de Iguape-SP, Miracatu-SP e Guaratuba – PR. Os cantos de anúncio de *A. sp. S* analisados não são pulsionados e apresentam modulação de frequência ascendente ascentuada (Figura 13). A população de Guaratuba – PR apresentou cantos mais longos (entre 80 e 100 ms) que indivíduos das populações de Iguape – SP e Miracatu – SP (entre 10 e 60 ms conjuntamente). Entretanto, as frequências dominantes dos cantos das três populações não diferem entre si (Figura 14).

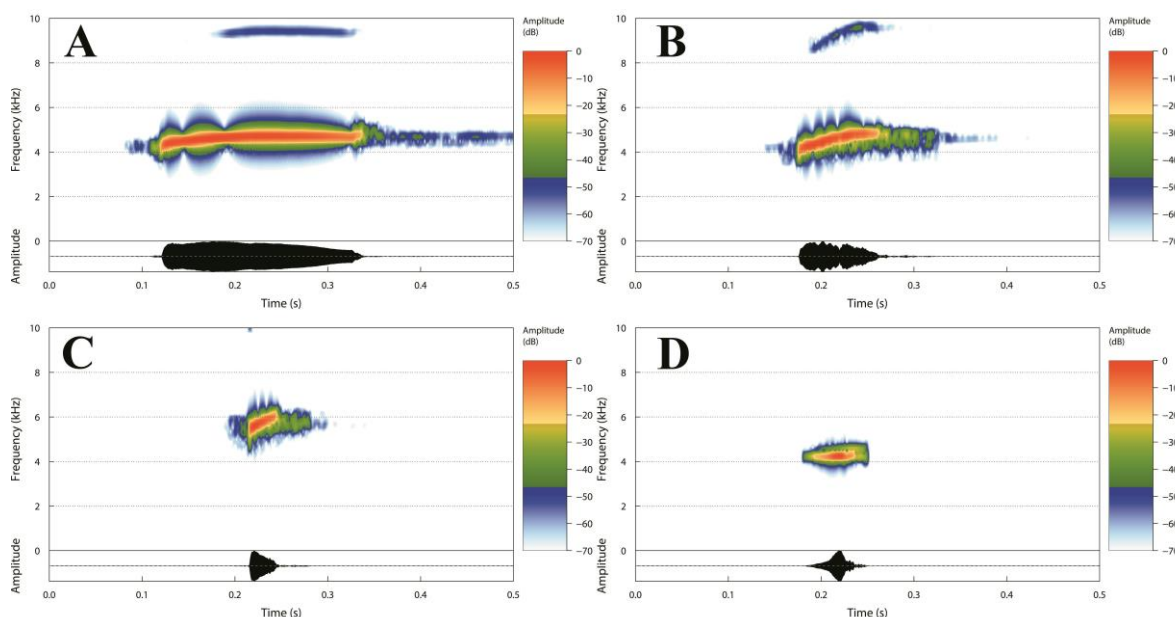


Figura 13. Sonograma (acima, em cores) e oscilograma (abaixo, em preto) dos cantos de anúncio das espécies *Adenomera ajurauna* e *Adenomera* sp. S: **A** – *A. ajurauna*, Parque das Neblinas, Mogi das Cruzes, SP (localidade tipo da espécie); **B** – *A. ajurauna*, Miracatu, SP; **C** – *A. sp. S*, Iguape, SP; **D** – *A. sp. S*, Guaratuba, PR.

Adenomera ajurauna é diagnosticada pela coloração dorsal uniformemente escura e pela coloração da gula marrom escura com pontos brancos esparsos (Berneck *et al.*, 2008). Alguns indivíduos podem apresentar listras dorsolaterais creme (Figura 5). Entretanto, o padrão marmoreado mais claro, comum dentro do gênero *Adenomera*, também foi observado em outros dois indivíduos machos de *A. ajurauna* do Parque das Neblinas, Município de Mogi das Cruzes – SP, localidade tipo da espécie (Figura 5 e 15) e nos indivíduos das populações dos municípios de São Paulo – SP, Tapiraí – SP e Piedade – SP. Adicionalmente, as populações de *A. ajurauna* de Paranapiacaba – SP, Mogi das Cruzes – SP e Miracatu – SP apresentam tubérculos na tíbia e a extremidade distal dos artelhos expandida, ao passo que os indivíduos analisados de São Paulo-SP, Tapiraí - SP e Piedade - SP não apresentam

tubérculos na tíbia (Figura 13). Todos os machos de *A. ajurauna* apresentam uma pequena glândula ectopeitoral.

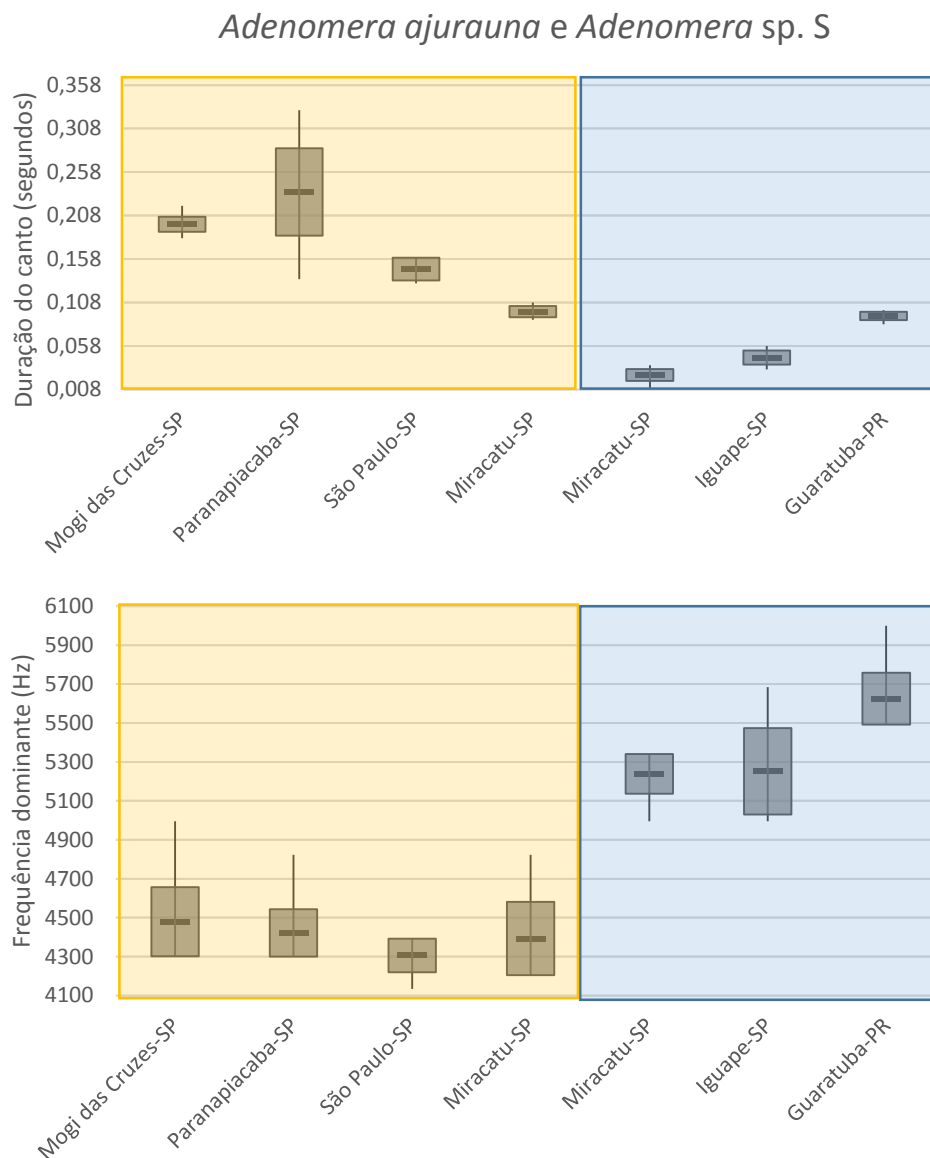


Figura 14. Variação acústica intrapopulacional (duração do canto acima e frequência dominante abaixo) em *Adenomera ajurauna* (região amarela) e *Adenomera* sp. S (região azul). Barra vertical = amplitude da variação observada (valores máximo e mínimo); Barra horizontal = média e mediana para duração e frequência dominante do canto, respectivamente; Retângulo vertical = média/mediana $\pm$ desvio padrão.

Os indivíduos analisados de *A. sp. S* apresentam poucos tubérculos na tíbia, extremidade distal dos artelhos expandidas, região interorbital com duas ou mais manchas mais claras em seu interior (Figura 15), com uma variação semelhante à observada em *A. thomei*. O padrão de coloração lateral em *A. sp. S* é marmoreado com vários pequenos pontos marrons num fundo cinza diferente de *A. ajurauna*, que apresenta lateral uniformemente marrom escuro ou com manchas marrom escuro maiores (Figura 16). A gula de *A. sp. S*, assim como encontrado em alguns indivíduos de *A. ajurauna*, apresenta coloração creme com diminutos pontos marrom escuro. Os machos desta espécie também apresentam uma pequena glândula na região axilar. Apesar de alguma sobreposição de padrões morfológicos, as espécies irmãs *A. ajurauna* e *A. sp. S* se distinguem entre si acusticamente quanto à frequência dominante do canto (Figura 14) e padrão de coloração lateral (Figura 16).

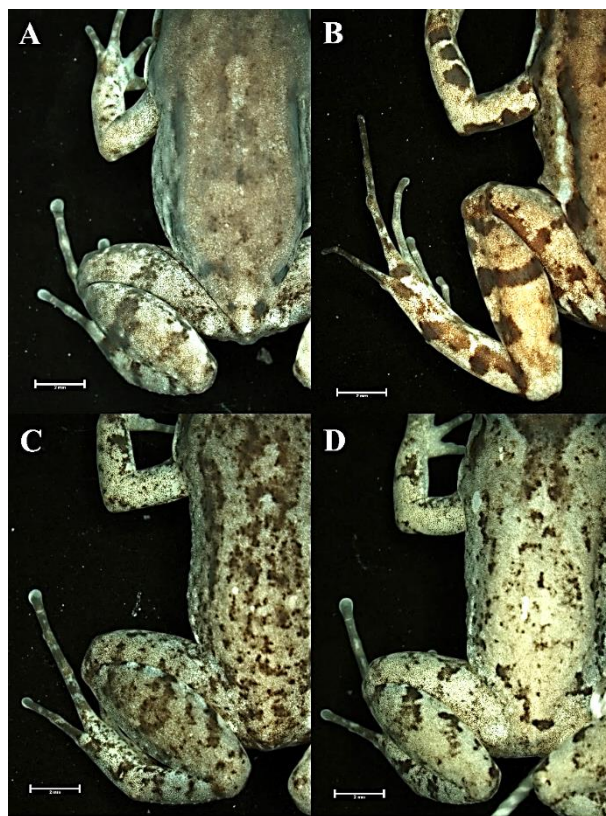


Figura 15. Variação morfológica das espécies *Adenomera ajurauna* e *Adenomera* sp. S quanto à presença de tubérculos na tíbia (A – presente; B – ausente) e formato das pontas dos artelhos (C e D – expandidos). **A** – *A. ajurauna* (BB 459), Parque das Neblinas, Mogi das Cruzes, SP (localidade tipo da espécie); **B** – *A. ajurauna* (CFBH 9123), Tapiraí, SP; **C** – *A. sp. S* (CFBH 35829), Iguape, SP; e **D** – *A. sp. S* (CFBH 35854), Miracatu, SP.



Figura 16: Variação morfológica das espécies candidatas *Adenomera ajurauna* e *Adenomera* sp. S quanto ao padrão de colorido da lateral do corpo. **A** – *A. ajurauna* (BB459), manchas marrom escuro; **B** – *A. sp. S* (CFBH 35832), pequenos pontos marrom e marrom escuro.

ADENOMERA MARMORATA, A. SP. J, A. SP. K

Na nossa análise filogenética, recuperamos as espécies candidatas *A. marmorata* como irmã de *A. sp. J*, o clado *A. marmorata* + *A. sp. J* como irmão de *A. sp. K* e o clado *A. marmorata* + *A. sp. J* + *A. sp. K* como irmão de *A. sp. A* (Figuras 1, 2, 3d e 17).

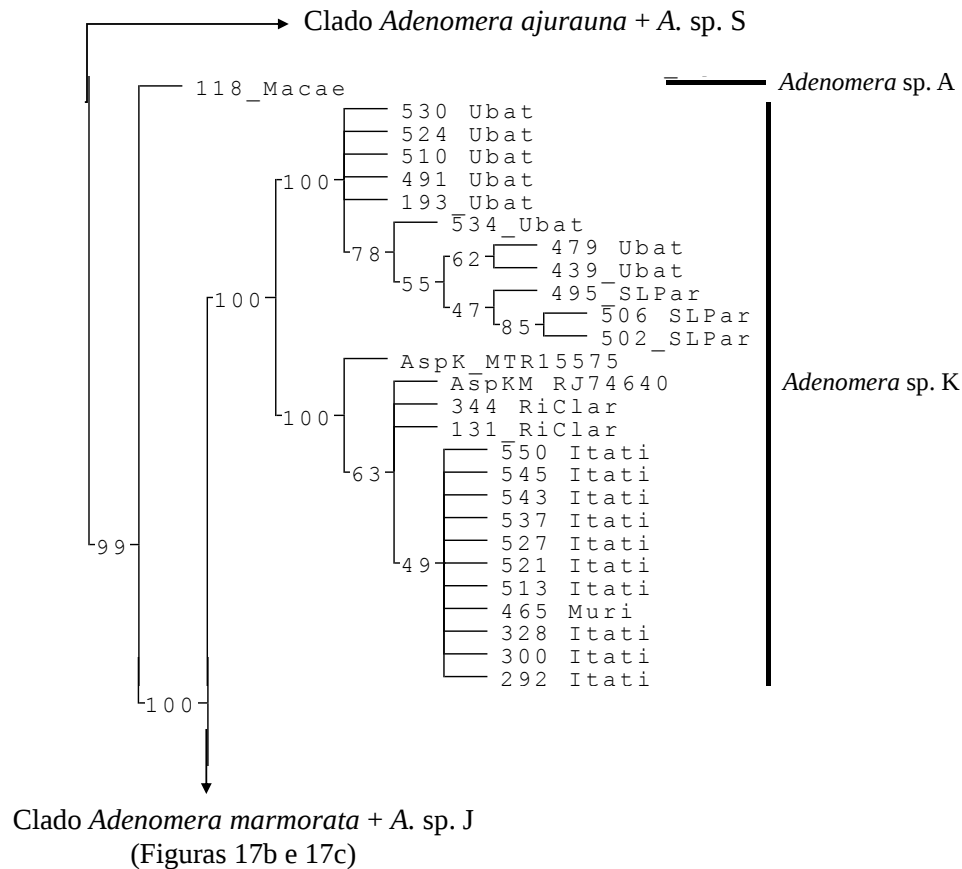
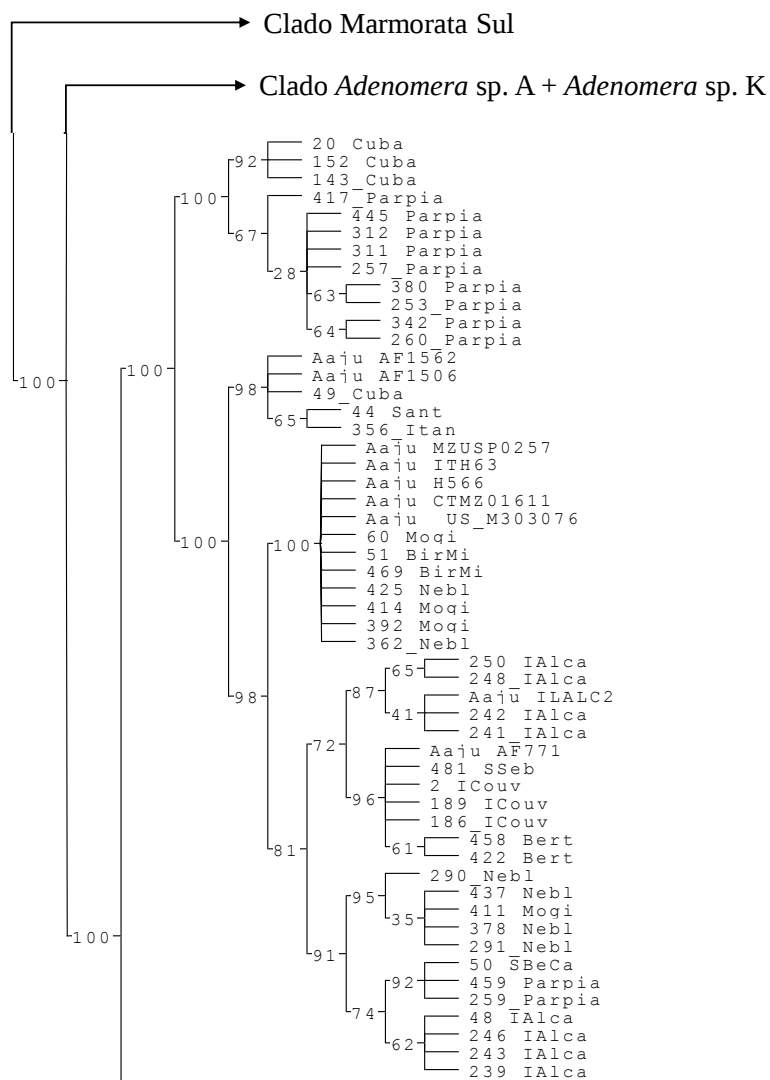


Figura 17a – *Adenomera sp. A* + *Adenomera sp. K*. Árvore filogenética de consenso estrito obtida a partir das 20 árvores mais parcimoniosas. Valores abaixo dos nós mostram a frequência absoluta estimada de Jackknife utilizando TNT.



Adenomera marmorata
(Figura 17c)

Figura 17b – *Adenomera* sp. J. Árvore filogenética de consenso estrito obtida a partir das 20 árvores mais parcimoniosas. Valores abaixo dos nós mostram a frequência absoluta estimada de Jackknife utilizando TNT.

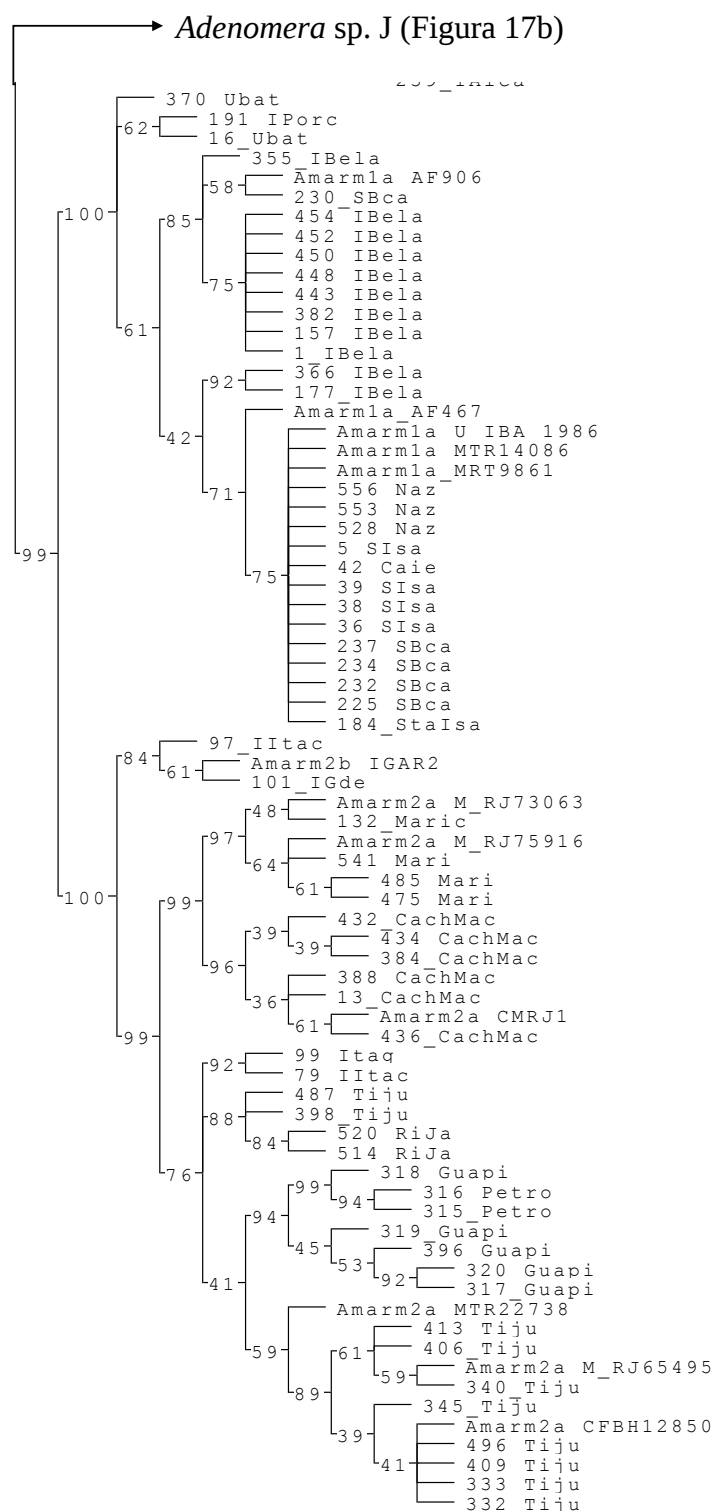


Figura 17c – *Adenomera marmorata*. Árvore filogenética de consenso estrito obtida a partir das 20 árvores mais parcimoniosas. Valores abaixo dos nós mostram a frequência absoluta estimada de Jackknife utilizando TNT.

Analizamos cinco populações de *Adenomera marmorata* dos municípios do Rio de Janeiro – RJ; Petrópolis – RJ; Maricá – RJ; Guapimirim – RJ; Cachoeiras de Macacu – RJ; Nazaré Paulista – SP; três populações da espécie candidata *A. sp. J* dos municípios de Paranapiacaba – SP, Mogi das Cruzes – SP e Ilha de Alcatrazes – SP; e três populações de *A. sp. K* dos municípios de Ubatuba – SP, Itatiaia – RJ, Muriaé – MG. Os cantos de anúncio de *A. marmorata*, *A. sp. J* e *A. sp. K* não são pulsionados e podem apresentar modulação de frequência ascendente ou não apresentar modulação de frequência alguma (Figura 18). Não conseguimos obter gravações de cantos da população de Macaé – RJ para que pudéssemos analisar acusticamente a espécie candidata *A. sp. A* (Fouquet *et al.*, 2014).

Adenomera marmorata (*sensu* Fouquet *et al.*, 2014) possui canto de anúncio com duração entre 34 ms (Rio de Janeiro – RJ) e 108 ms (Guapimirim – RJ). A frequência dominante variou entre 3962 Hz (Nazaré Paulista – SP) e 4875 Hz (Guapimirim – RJ) (Figuras 8 e 16). Todos os indivíduos analisados apresentaram modulação de frequência ascendente. A espécie *A. sp. J*, irmã de *A. marmorata*, apresenta cantos de anúncio com duração entre 21 ms e 59 ms (Mogi das Cruzes – SP) e frequência dominante entre 4307 Hz (Mogi das Cruzes – SP) e 5168 Hz (Paranapiacaba – SP) (Figuras 10 e 18). Os cantos de *A. sp. J* podem apresentar modulação de frequência ascendente ou não apresentar modulação de frequência.

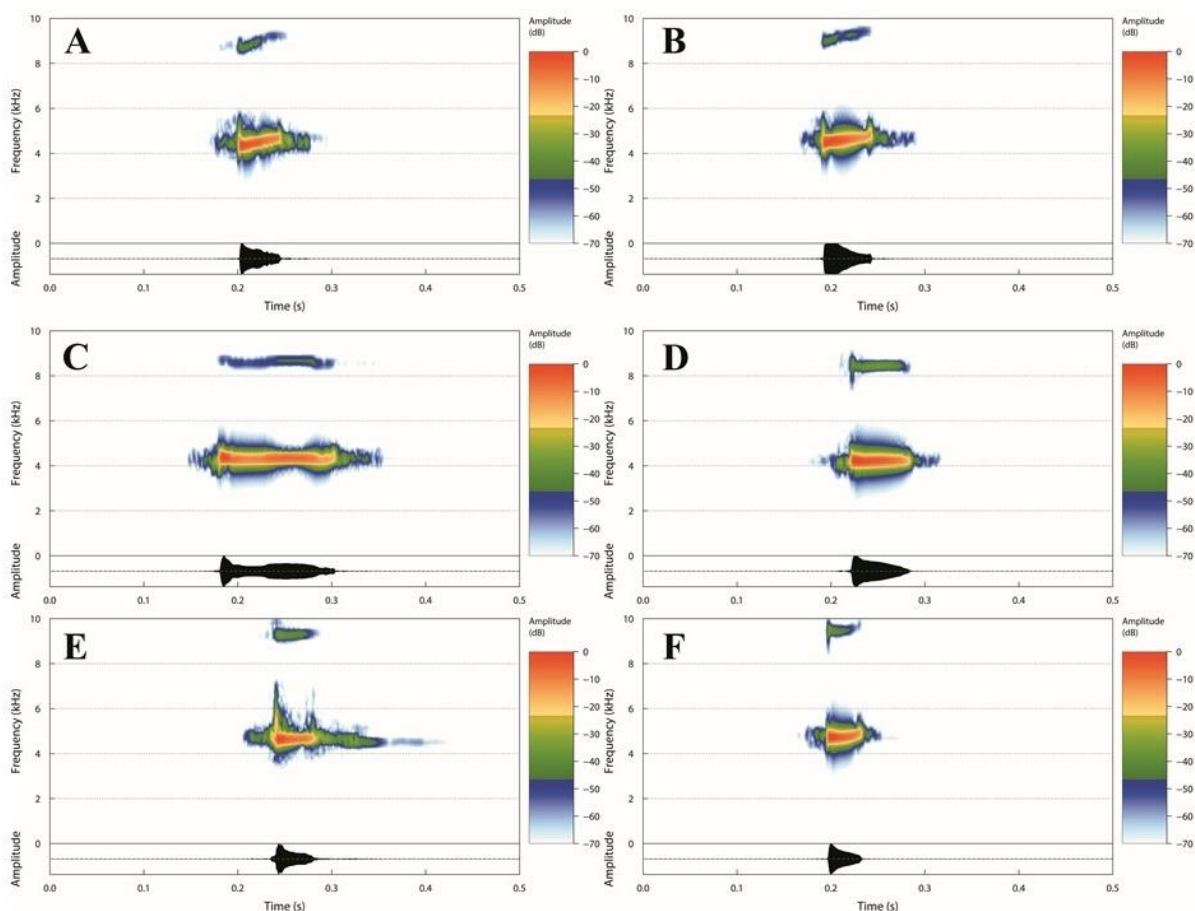


Figura 18. Sonograma (acima, em cores) e oscilograma (abaixo, em preto) dos cantos de anúncio das espécies *Adenomera marmorata*, A. sp. J, A. sp. K: **A** – *A. marmorata*, Floresta Nacional da Tijuca, Rio de Janeiro, RJ (presumidamente localidade tipo da espécie); **B** – *A. marmorata*, Parque Estadual da Serra dos Órgãos, Guapimirim, RJ; **C** – A. sp. K, Itatiaia, RJ; **D** – A. sp. K, Ubatuba, SP; **E** – A. sp. J, Parque das Neblinas, Mogi das Cruzes, SP; e **F** – A. sp. J, Paranapiacaba, SP.

A espécie A. sp. K é irmã do clado *Adenomera marmorata* + A. sp. J e apresenta cantos de anúncio com duração entre 40 ms (Ubatuba – SP) e 146 ms (Itatiaia – RJ), e frequência dominante entre 3790 Hz (São Luís do Paraitinga – SP) a 4823 Hz (Ubatuba –

SP) (Figura 19). Assim como *A. sp. J*, a espécie candidata *A. sp. K* pode apresentar modulação de frequência ascendente ou não apresentar modulação de frequência.

Adenomera marmorata, *A. sp. J* e *A. sp. K* apresentam tamanho pequeno (Figura 12). *Adenomera sp. J* é a espécie que apresentou os menores valores de CRC (machos = 17,2 mm n = 3; fêmeas = 16,8 mm n = 13). Não obstante, indivíduos da população de *A. sp. J* da Ilha de Alcatrazes – SP são maiores que os indivíduos das populações continentais da mesma espécie (CRC de machos = 25 mm, n = 1, CRC de fêmeas = 27,3 mm, n = 4) (Figura 17). Machos de *Adenomera marmorata* possuem tamanho corporal de 19 a 25,0 mm (n=21) e fêmeas de 19 a 23,5 mm (n=13) e machos de *A. sp. K* possuem CRC de 19,5 a 20,5 mm (n=11) e fêmeas de 19,8 a 22,3 mm (n=2) (Figura 12).

Todas as espécies candidatas (*A. marmorata*, *A. sp. J* e *A. sp. K* e *A. sp. A*) apresentam glândulas axilares pouco entumecidas. *Adenomera marmorata*, *A. sp. K* e *A. sp. A* apresentam tubérculos na parte externa da tíbia. As populações continentais de *A. sp. J* não apresentam tubérculos na tíbia. Contudo, indivíduos da população *A. sp. J* da Ilha de Alcatrazes apresentam tubérculos na parte externa da tíbia como em *A. marmorata*, *A. sp. K* e *A. sp. A* (Figura 21). *Adenomera marmorata*, *A. sp. J*, *A. sp. K* e *A. sp. A* apresentam manchas marrom escuras na região lateral do corpo. O triângulo interorbital nas quatro espécies é homogêneo, não apresentando manchas mais claras em seu interior. As quatro espécies apresentam as extremidades distais dos artelhos expandidas.

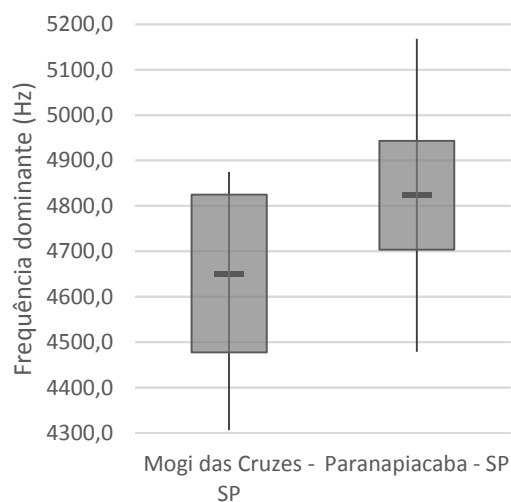
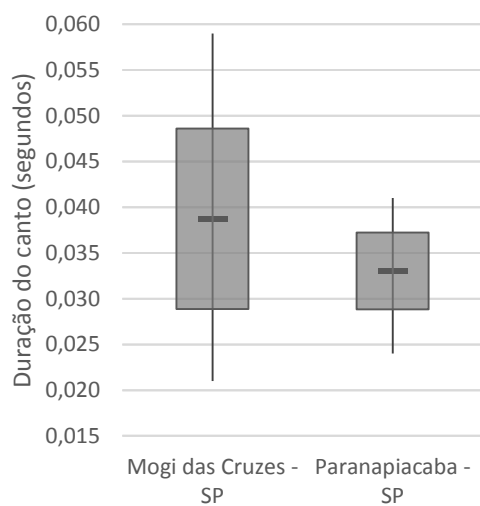
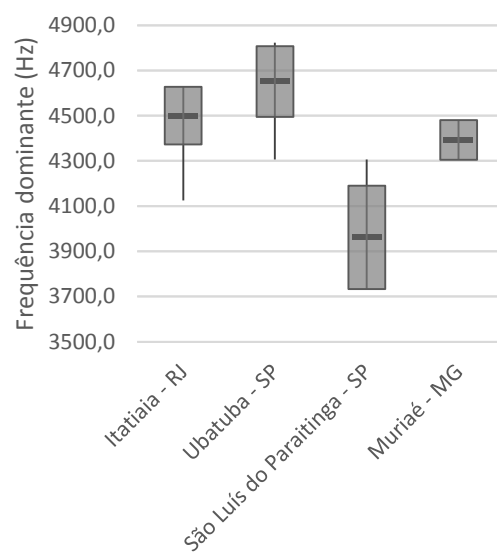
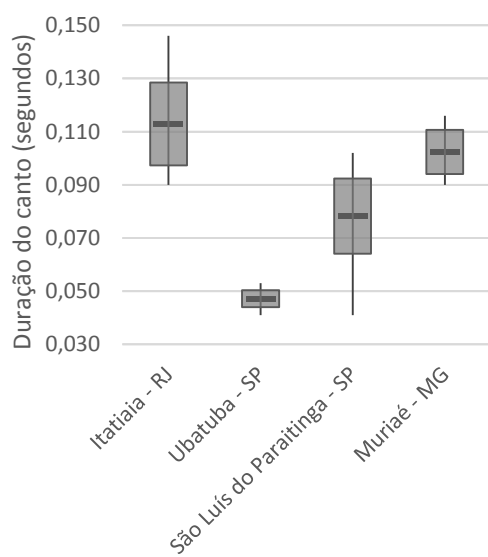
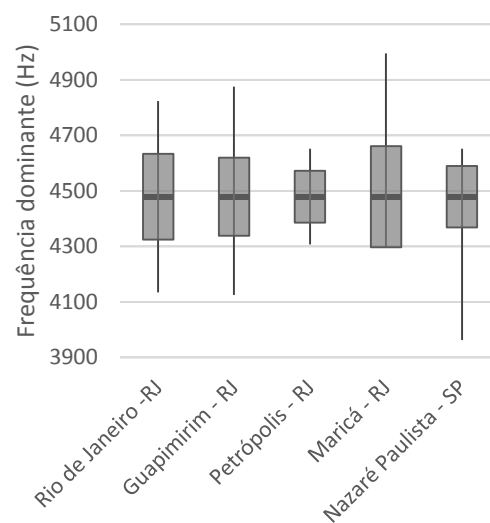
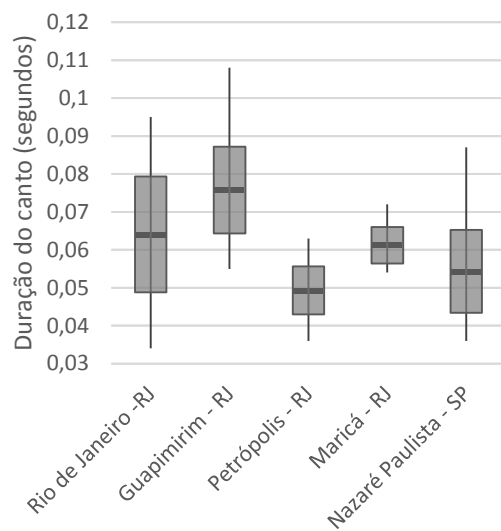


Figura 19 (página anterior). Variação acústica intrapopulacional (duração do canto e frequência dominante) em *Adenomera marmorata* (acima), *Adenomera* sp. K (meio) e *Adenomera* sp. J (abaixo). Barra vertical = amplitude da variação observada (valores máximo e mínimo); Barra horizontal = média e mediana para duração e frequência dominante do canto, respectivamente; Retângulo vertical = média/mediana $\pm$ desvio padrão.

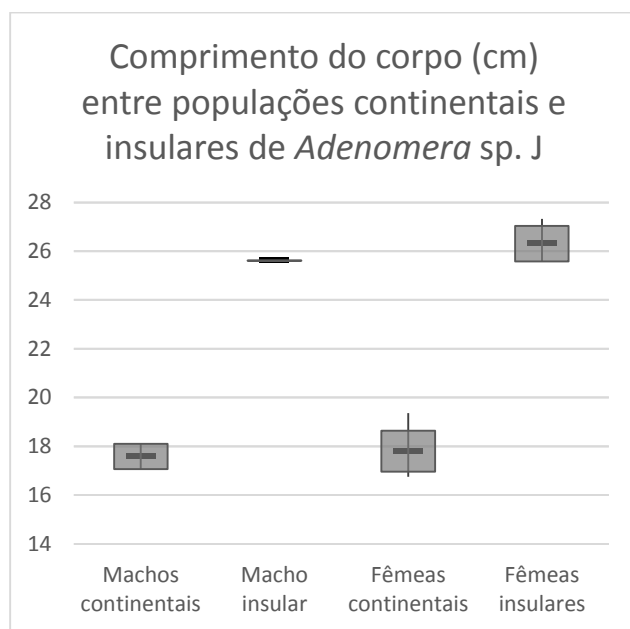


Figura 20. Variação no tamanho do comprimento rostro-cloacal (CRC) de machos e fêmeas entre populações da espécie candidata *Adenomera* sp. J (*sensu* Fouquet *et al.*, 2014). Barra vertical = amplitude da variação observada (valores máximo e mínimo); Barra horizontal = média e mediana para duração e frequência dominante do canto, respectivamente; Retângulo vertical = média/mediana $\pm$ desvio padrão.

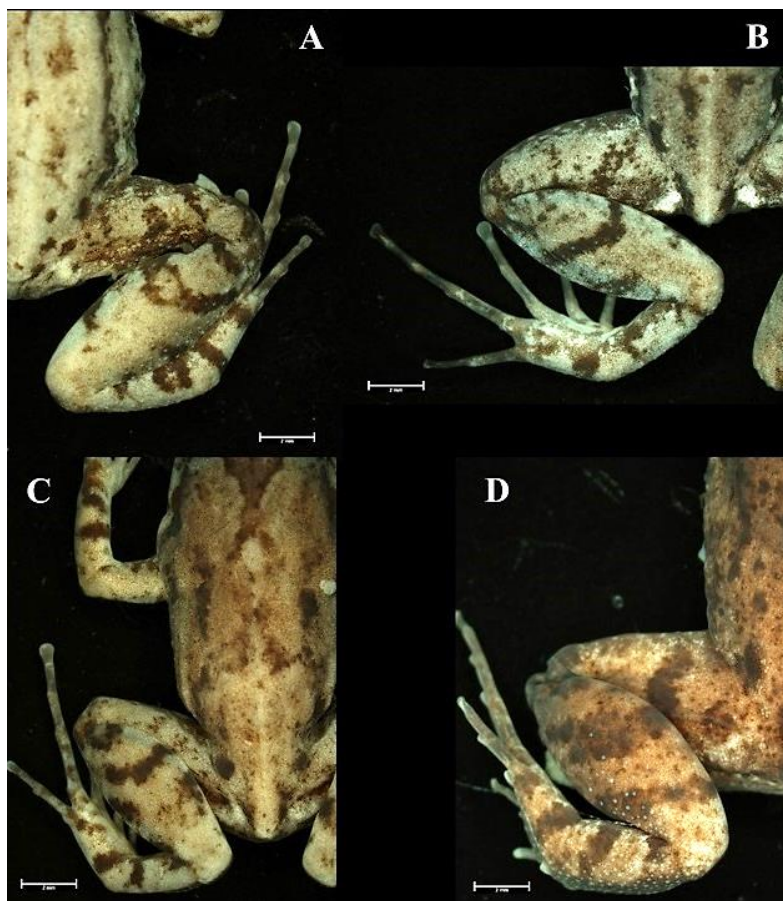


Figura 21. Variação morfológica quanto à presença de tubérculos na tíbia e expansão da extremidade do artelho em **A** – *Adenomera marmorata*, Rio de Janeiro, RJ; **B** – *Adenomera* sp. K, Ubatuba, RJ; **C** – *Adenomera* sp. J, Paranapiacaba, SP; **D** – *Adenomera* sp. J, Ilha de Alcatrazes, SP.

Nenhuma característica morfológica ou acústica foi encontrada para que pudéssemos separar as espécies candidatas, *A. marmorata*, *A. sp. J* e *A. sp. K*, entre si. Como não obtivemos dados acústicos da espécie candidata *A. sp. A* e sua morfologia não se distingue das demais espécies candidatas (*A. marmorata*, *A. sp. J* e *A. sp. K*), consideramos estas quatro espécies candidatas todas como pertencentes à uma mesma espécie, *A. marmorata*.

CLADO MARMORATA SUL

O Clado Marmorata Sul é definido por seis espécies *sensu* Fouquet *et al.* (2014): *A. araucaria*, *A. sp. R*, *A. sp. N*, *A. nana*, *A. engelsi*, *A. bokermanni* e *A. sp. O* (Figuras 1, 2 e 3b). Coletamos e analisamos a morfologia e bioacústica de indivíduos inseridos na análise filogenética representantes de todas as espécies, exceto pelo canto de anúncio de *A. sp. N*, para o qual não obtivemos gravações do canto de anúncio. O clado Marmorata Sul apresenta espécies com cantos pulsionados e espécies com cantos não pulsionados (Figuras 22, 25 e 28).

ADENOMERA ARAUCARIA E *A. SP. R*

Recuperamos *Adenomera araucaria* e *A. sp. R* como irmãs na análise filogenética (Figuras 1, 2 e 3b). Coletamos indivíduos, gravamos cantos e analisamos a bioacústica de uma população de *A. araucaria* do município de São Bento do Sul – SC. Adicionalmente, para fins comparativos, analisamos exemplares e os cantos de anúncio de uma população de *A. araucaria* de São Francisco de Paula – RS utilizados na descrição da espécie (Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza Pró-Mata, localidade tipo da espécie). Apesar do canto de anúncio da população de São Francisco de Paula não ter sido obtido diretamente dos nossos exemplares sequenciados, obtivemos dados filogenéticos de indivíduos da localidade tipo da espécie. Assim, apesar dos dados acústicos analisados da localidade tipo da espécie de *A. araucaria* terem sido inferidos indiretamente na nossa análise filogenética, estes são congruentes com aqueles obtidos de São Bento do Sul – SC, como é mostrado a seguir.

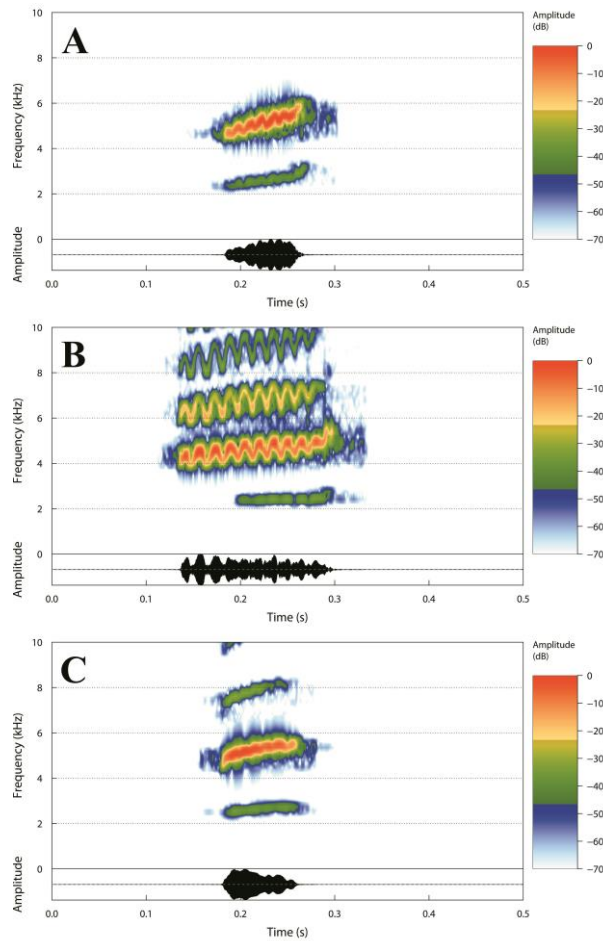


Figura 22. Sonograma (acima, em cores) e oscilograma (abaixo, em preto) dos cantos de anúncio das espécies *Adenomera araucaria* e *Adenomera* sp. R: **A** – *A. araucaria*, Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza Pró-Mata, São Francisco de Paula, RS (localidade tipo da espécie); **B** – *A. araucaria*, São Bento do Sul, SC; **D** – *A. sp. R*, Florianópolis, SC.

O canto de anúncio de *A. araucaria* é pulsionado, muito embora alguns indivíduos da população de São Francisco de Paula – RS não apresentem pulsos distintos ao ouvido humano. Os cantos dos indivíduos desta localidade apresentarem muitas modulações de frequência ao longo da nota. O canto de anúncio de *A. araucaria* das populações de São Bento do Sul – SC apresenta pulsos distintos entre si ao longo da nota e perceptíveis ao

ouvido humano. O canto de *A. araucaria* apresenta modulação de frequência ascendente. Os cantos analisados apresentaram uma duração entre 89 ms (São Francisco de Paula – RS) e 139 ms (São Bento do Sul – SC). Indivíduos da população de São Bento do Sul – SC apresentaram cantos mais longos que aqueles de São Francisco de Paula – RS (Figura 20). A frequência dominante variou entre 4651 Hz (São Francisco de Paula – RS) e 5340 Hz (São Bento do Sul – SC) (Figuras 10 e 23).

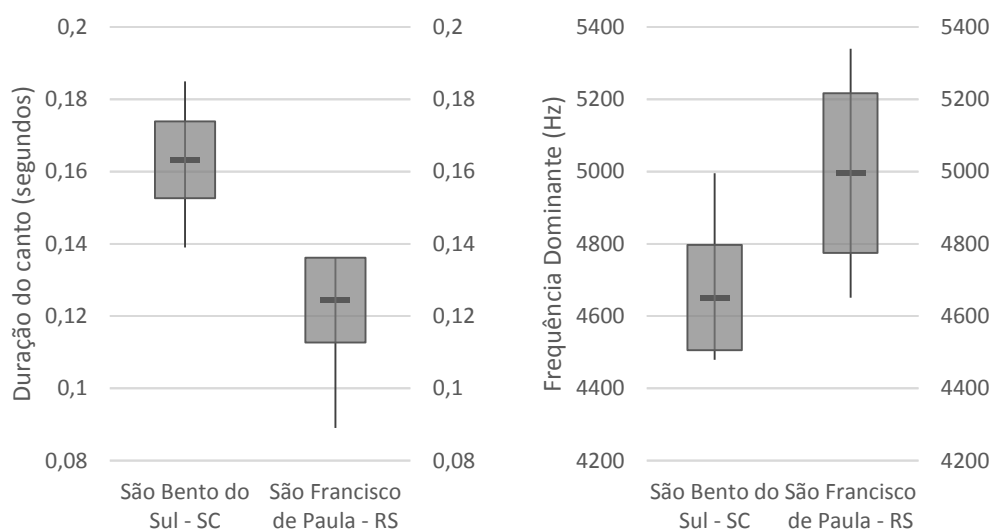


Figura 23. Variação acústica intrapopulacional (duração do canto e frequência dominante) em *Adenomera araucaria*. Barra vertical = amplitude da variação observada (valores máximo e mínimo); Barra horizontal = média e mediana para duração e frequência dominante do canto, respectivamente; Retângulo vertical = média/mediana $\pm$ desvio padrão.

Coletamos e analisamos a bioacústica de uma população de *A. sp. R* do município de Florianópolis – SC. A estrutura do canto de anúncio de *A. sp. R* é pulsionada porém apresenta modulações de frequência ao longo do envelope acústico bem menores do que em *A.*

araucaria (Figura 22). O canto de *A. sp. R* apresenta modulação de frequência ascendente. Os cantos analisados apresentaram uma duração entre 56 e 119 ms. A frequência dominante variou entre 4823 e 5685 Hz (Figura 10).

Todas as considerações morfológicas acerca de *A. araucaria* e *A. sp. R* devem ser feitas com cautela devido ao pequeno tamanho amostral analisado ($n = 2$ para cada espécie). Indivíduos analisados de ambas as espécies apresentam tamanho corporal pequeno (Figura 12). Os espécimes analisados de *A. araucaria* não apresentam tubérculos na tíbia, ao passo que indivíduos analisados de *A. sp. R* apresentam poucos tubérculos na região externa da tíbia. Tanto *A. araucaria* como *A. sp. R* apresentam lateral do corpo com manchas marrom claras, sendo este padrão menos marcante em *A. sp. R* (Figura 24). As pontas dos artelhos de *A. sp. R* são expandidas, o que não ocorre em *A. araucaria* (Figura 24). O triângulo interorbital nas duas espécies é homogêneo, não apresentando manchas mais claras em seu interior. Machos de *A. araucaria* apresentam a glândula ectopeitoral entumecida e *A. sp. R* apresentam esta glândula pouco entumecida.

As espécies *A. araucaria* e *A. sp. R* distinguem-se entre si pela estrutura do canto (Figura 22) e pela expansão da extremidade distal do artelho (expandido em *A. sp. R*; Figura 24). Sendo assim, consideramos que *A. araucaria* e *A. sp. R* representam duas espécies distintas entre si.

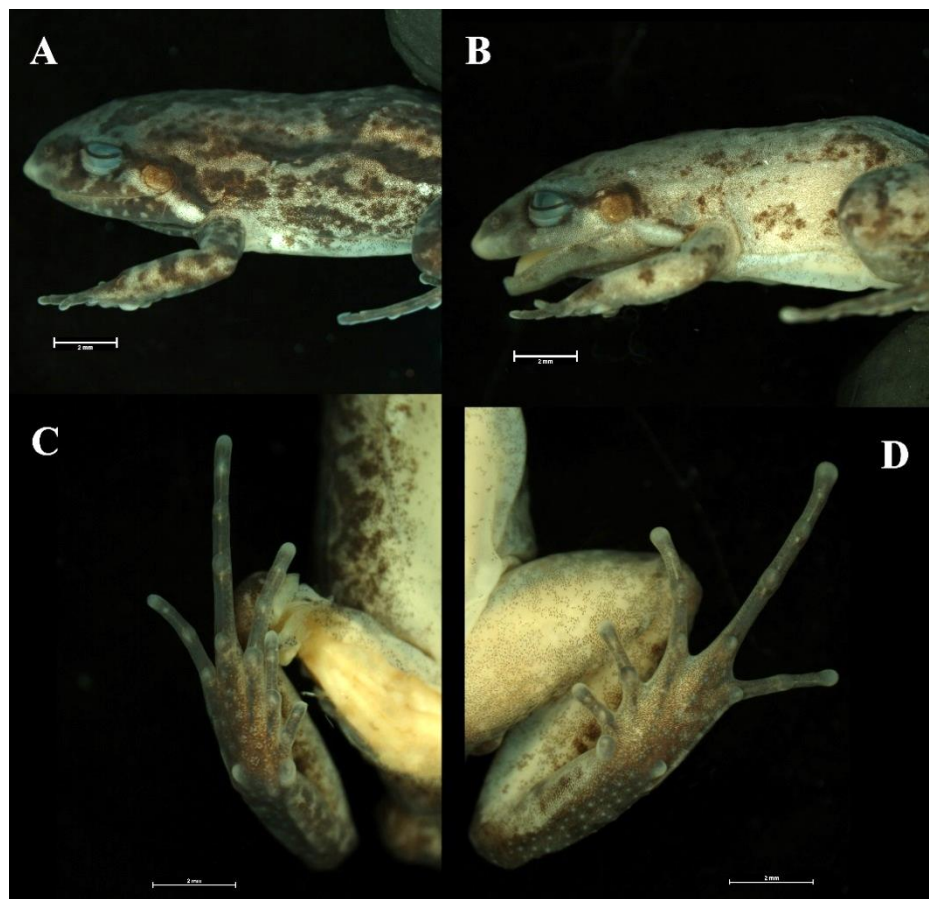


Figura 24. Variação morfológica quanto ao padrão de coloração lateral do corpo, expansão da extremidade do artelho em *Adenomera araucaria* e *Adenomera* sp. R. **A** – *A. araucaria* (UFMG 10189); **B** – *A. sp. R* (UFMG 7080); **C** – *A. araucaria* (UFMG 10189); **D** – *A. sp. R* (UFMG 7080).

ADENOMERA ENGELSI, *A. NANA*, *A. SP. N*

As espécies candidatas irmãs *A. engelsi* e *A. nana* formam o grupo irmão de *A. bokermanni* e este grupo por sua vez é irmão de *A. sp. N* (Figuras 1, 2 e 3b). Por motivos de semelhança morfológica compararemos nesta seção as espécies *A. engelsi*, *A. nana* e *A. sp. N*.

Analizamos duas populações de *Adenomera engelsi* dos municípios de Rancho Queimado – SC e Florianópolis – SC (localidade tipo da espécie); três populações da espécie *A. nana* dos municípios de Joinville – SC, São Bento do Sul – SC e São Francisco do Sul – SC; e a morfologia de duas populações de *A. sp. N* dos municípios de Quatro Barras – PR e Morretes – PR. Não foram obtidos cantos de anúncio de *A. sp. N*. Os cantos de anúncio de *A. engelsi* e *A. nana* são não pulsionados e podem apresentar pequena modulação de frequência ascendente ou não apresentar modulação de frequência (Figura 25).

Adenomera engelsi possui canto de anúncio com duração entre 77 ms (Florianópolis – SC) e 194 ms (Rancho Queimado – SC). A frequência dominante variou de 3617 Hz (Rancho Queimado – SC) a 4306 Hz (Florianópolis – SC) (Figuras 10 e 26). Todos os indivíduos analisados apresentaram modulação de frequência. *Adenomera nana* possui canto de anúncio com duração entre 67 ms (São Francisco do Sul – SC) e 126 ms (São Bento do Sul – SC). A frequência dominante variou de 4651 Hz (São Bento do Sul – SC) a 5512 Hz (São Francisco do Sul – SC) (Figuras 10 e 26). Nenhum dos indivíduos analisados apresentaram modulação de frequência ou apresentaram uma pequena modulação de frequência ascendente. Quanto à frequência dominante do canto, *A. engelsi* se distingue prontamente de *A. nana*, apresentando menores valores de frequência dominante do que a última (Figuras 10 e 26).

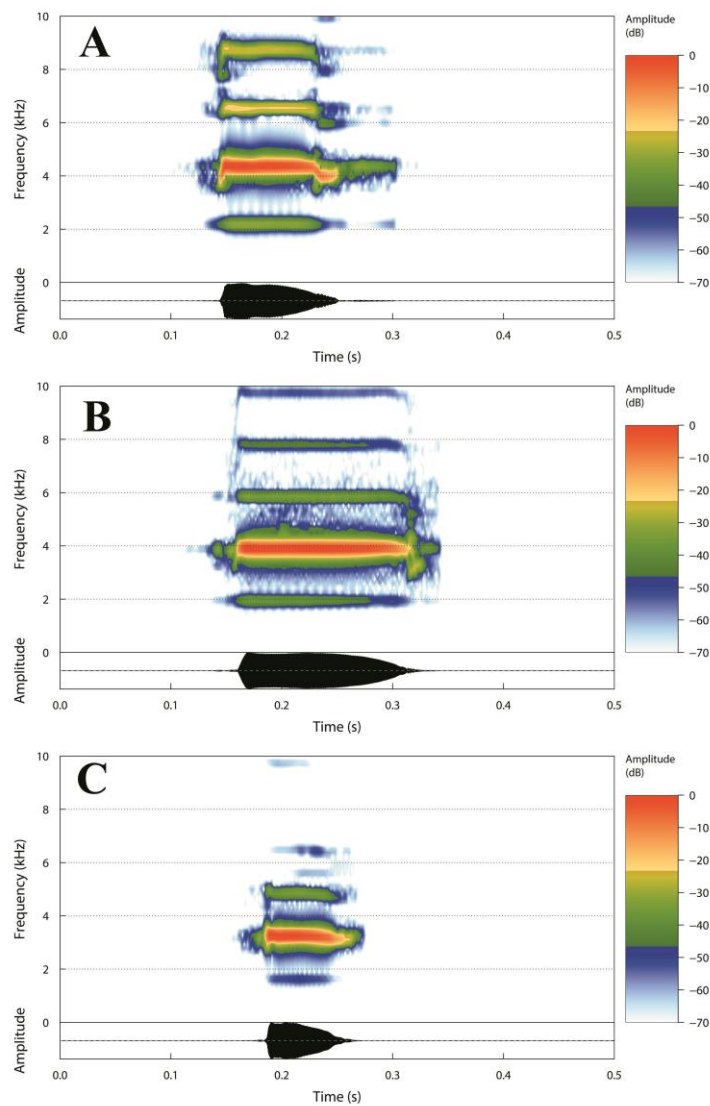


Figura 25. Sonograma (acima, em cores) e oscilograma (abaixo, em preto) dos cantos de anúncio das espécies *Adenomera engelsi* e *A. nana*. **A** – *A. engelsi*, Praia dos naufragados, Florianópolis, SC (localidade tipo da espécie); **B** – *A. engelsi* Rancho Queimado, SC; **C** – *A. nana*, São Francisco do Sul, SC.

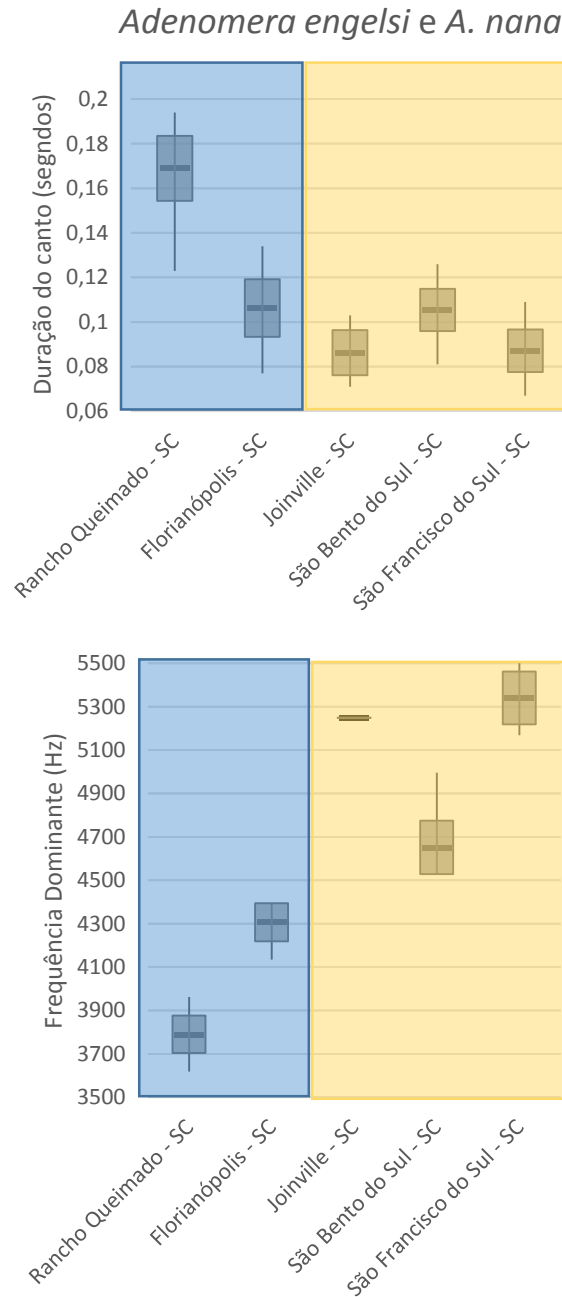


Figura 26. Variação acústica intrapopulacional (duração do canto e frequência dominante) em *Adenomera engelsi* (azul) e *Adenomera nana* (amarelo). Barra vertical = amplitude da variação observada (valores máximo e mínimo); Barra horizontal = média e mediana para duração e frequência dominante do canto, respectivamente; Retângulo vertical = média/mediana $\pm$ desvio padrão.

As espécies *Adenomera engelsi*, *A. nana* e *A. sp. N* distinguem-se entre si por apresentarem machos com tamanhos corporais distintos (médias: CRC = 21 mm, n= 7 machos de *A. engelsi*; CRC = 17,9 mm, n=8 machos de *A. nana*; CRC = 16,15 mm, n= 3 machos de *A. sp. N*; Figura 12). *Adenomera engelsi* apresenta muitos tubérculos na lateral externa da tíbia e *A. nana* e *A. sp. N* apresentam poucos ou nenhum tubérculo na tíbia (Figura 27). No caso da espécie candidata *A. sp. N*, quando os tubérculos na tíbia estão presentes, estes estão localizados apenas na região distal da lateral externa da tíbia, próximo ao calcanhar (Figura 28). *Adenomera engelsi*, *A. nana* e *A. sp. N* apresentam polimorfismo quanto à coloração lateral do corpo, podendo ter predominantemente manchas marrom escuras maiores ou predominantemente pequenos pontos marrom escuros num fundo cinza. Em *A. engelsi* e *A. nana* a mancha interorbital nem sempre forma um triângulo e pode apresentar em seu interior uma ou duas manchas pequenas mais claras (lembrando o padrão “mask-like” de *A. thomei*). O triângulo interorbital em *A. sp. N* é uniformemente marrom (Figura 27). Machos de *A. engelsi* e *A. nana* apresentam glândulas axilares entumecida e machos de *A. sp. N* apresentam a glândula ectopeitoral pouco entumecida. As extremidades dos artelhos em *A. engelsi*, *A. nana* e *A. sp. N* é pouco expandida. Assim, as espécies irmãs *A. engelsi* e *A. nana* distinguem entre si por evidências morfológicas e acústicas e ambas as espécies se distinguem de *A. sp. N* pelo tamanho corporal dos machos. No entanto, serão necessários mais dados para que no futuro se possa decidir de forma mais embasada acerca do seu status específico de *A. sp. N* por não possuímos dados acústicos da espécie e pela evidência histórica não estar bem suportada, devido ao baixo suporte encontrado no clado formado por *A. bokermanni* + *A. engelsi* + *A. nana* (Figura 3b),

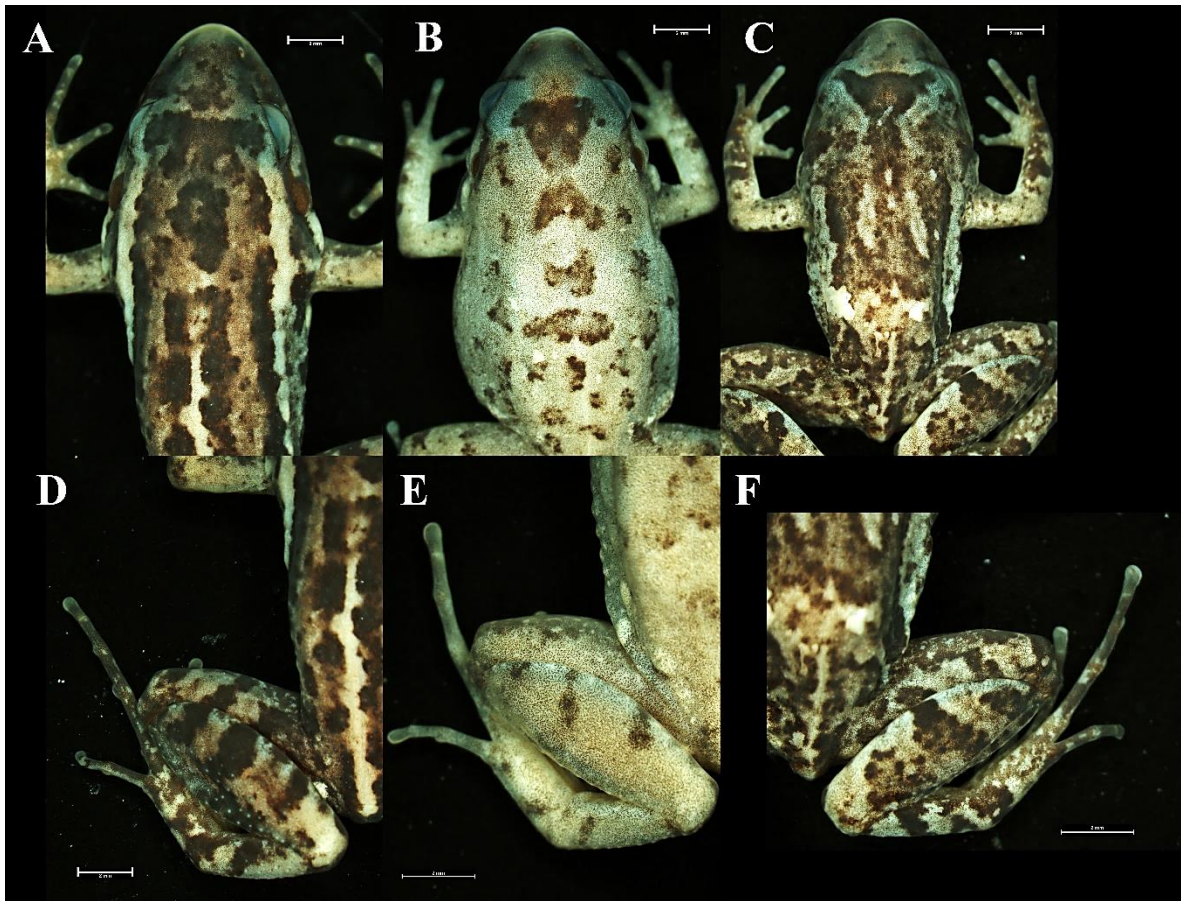


Figura 27. Variação morfológica das espécies *Adenomera engelsi*, *Adenomera nana* e *Adenomera* sp. N quanto ao padrão de coloração interorbital (A, B e C) e à presença de tubérculos na tíbia (D, E e F). **A e D** – *A. engelsi* (UFMG 10288); **B e E** – *A. nana* (UFMG 10280), **C e F** – *A. sp. N* (CFBH 21302).

ADENOMERA BOKERMANNI E *A. SP. O*

Na topologia da árvore consenso obtida na análise filogenética, *A. bokermanni* e *A. sp. O* não foram recuperadas como espécies irmãs (Figuras 1, 2 e 3b). Apesar disso, estas duas espécies candidatas foram aqui colocadas juntas no mesmo subitem dos resultados da análise morfológica e acústica por não termos encontrado nenhuma diferença diagnóstica fenotípica que as separe, como é mostrado a seguir.

Analizamos quatro populações de *Adenomera bokermanni* dos municípios de Paranaguá – PR (localidade tipo da espécie), Guaruva – PR, Itapoá – SC e São Francisco do Sul – SC; e cinco populações de *A. sp.* O dos municípios de Iguape – SP, Miracatu – SP, Ilha de Cananéia – SP, Ilha do Cardoso – SP e Ilha Comprida – SP. Os cantos de anúncio de *A. bokermanni* e *A. sp.* O não são pulsionados e podem apresentar pequena modulação de frequência ascendente ou, mais comumente, não apresentar modulação de frequência (Figura 28). Não obtivemos cantos de anúncio dos indivíduos da Ilha do Cardoso – SP, Ilha de Cananéia – SP e Ilha Comprida – SP e por isso apenas a morfologia externa foi analisada para estas populações.

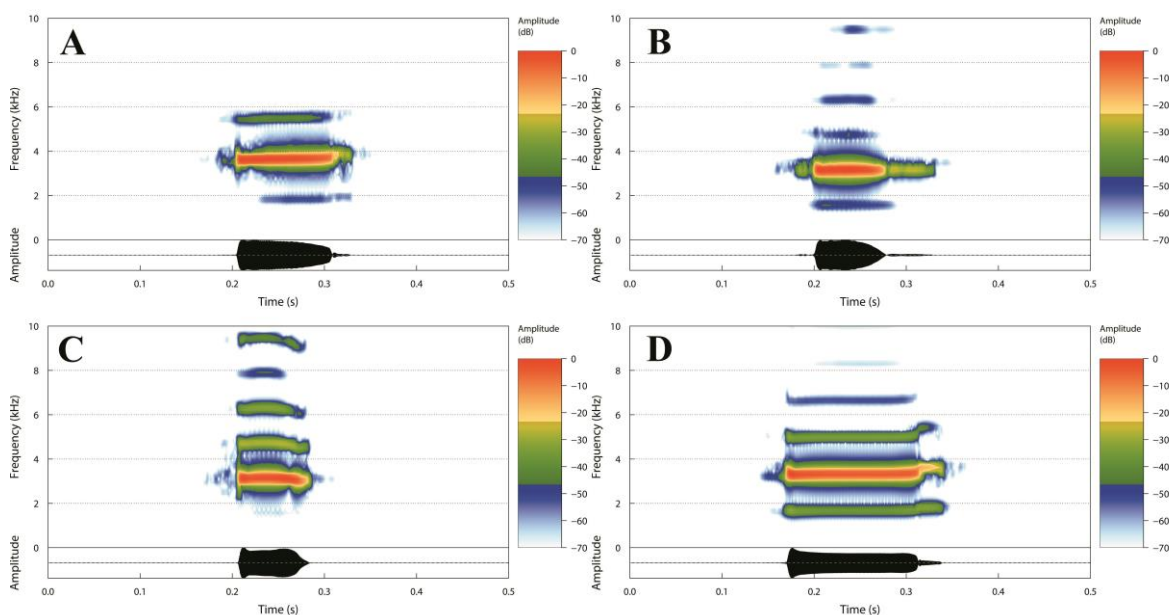


Figura 28. Sonograma (acima, em cores) e oscilograma (abaixo, em preto) dos cantos de anúncio das espécies *Adenomera bokermanni* e *A. sp.* O. **A** – *A. bokermanni*, Paranaguá, PR (localidade tipo da espécie); **B** – *A. bokermanni*, Itapoá, PR; **C** – *A. sp.* O, Iguape, SP; **D** – *A. sp.* O, Miracatu – SP.

Adenomera bokermanni possui canto de anúncio com duração entre 65 ms (São Francisco do Sul – SC) e 156 ms (Guaruva – PR). A frequência dominante do seu canto variou entre 2756 Hz (São Francisco do Sul – SC) a 3617 Hz (Paranaguá – PR) (Figuras 10 e 29). A maioria dos indivíduos analisados não apresentou modulação de frequência e poucos indivíduos apresentaram uma pequena modulação de frequência ascendente. O canto de anúncio de *A. sp. O* apresenta duração entre 53 ms (Iguape – SP) e 197 ms (Miracatu – SP). A frequência dominante variou entre 2928 Hz (Iguape – SP) a 3445 Hz (Miracatu – SP) (Figuras 10 e 29). Assim como em *A. bokermanni*, a maioria dos indivíduos analisados de *A. sp. O* não apresentou modulação de frequência e poucos indivíduos apresentaram uma pequena modulação de frequência ascendente.

Adenomera bokermanni e *A. sp. O* apresentam tamanhos corporais semelhantes (Figura 10). *Adenomera bokermanni* e *A. sp. O* apresentam tubérculos na lateral externa da tíbia e coloração lateral do corpo predominantemente com manchas marrom escuras (Figura 30). Em *A. bokermanni* e *A. sp. O* a mancha interorbital quase sempre possui forma um triângulo e pode apresentar em seu interior uma ou duas manchas pequenas mais claras (lembrando o padrão “mask-like” diagnóstico de *A. thomei*) ou ser uniformemente marrom escuro bem marcado ou não (Figura 30). A glândula ectopeitoral em *A. bokermanni* e em *A. sp. O* é muito entumecida. A extremidade dos artelhos em *A. bokermanni* e *A. sp. O* não é expandida (Figura 30). Nenhuma característica fenotípica foi encontrada que distinguisse *A. bokermanni* e *A. sp. O*, mas devido à evidência histórica consideramos que esta última se trata de uma nova espécie (ver Discussão).

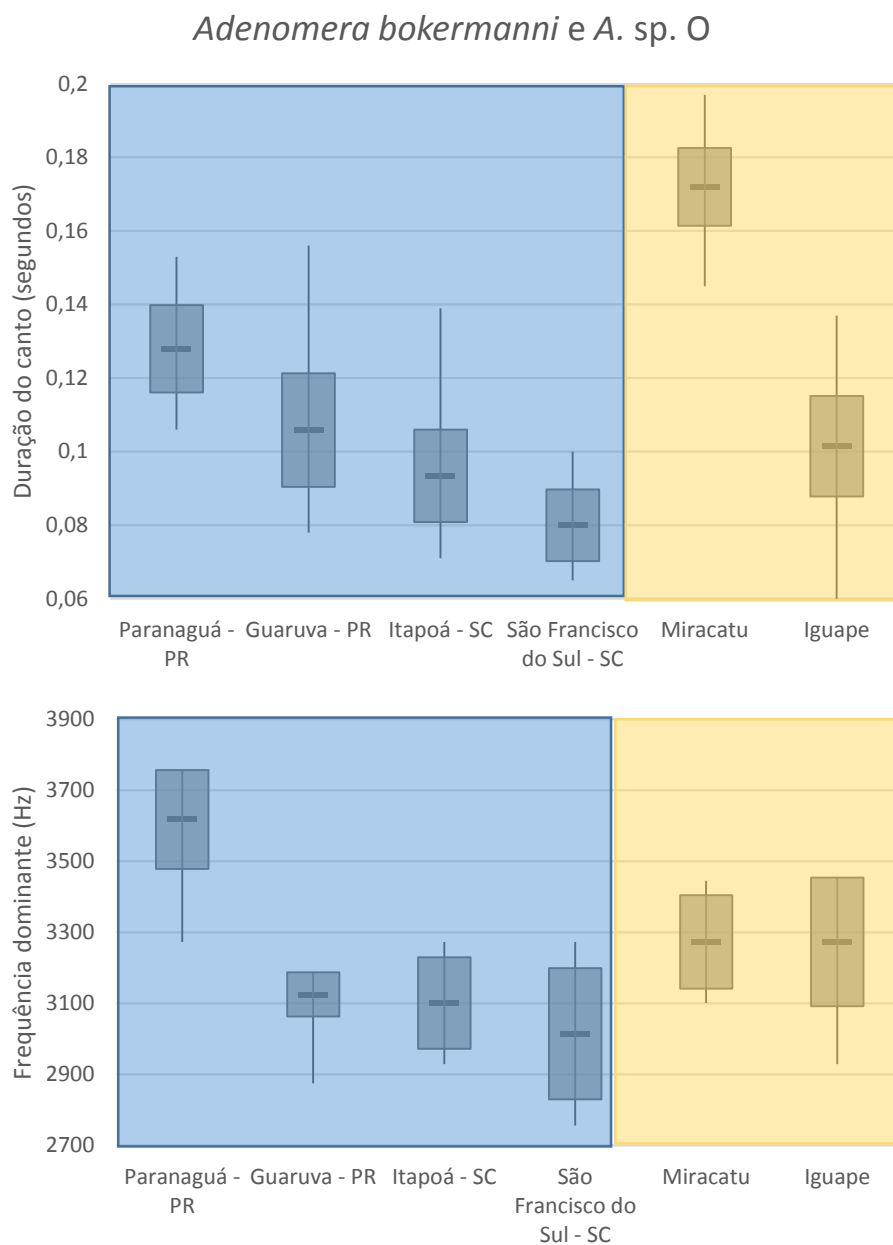


Figura 29. Variação acústica intrapopulacional (duração do canto e frequência dominante) em *Adenomera bokermanni* (azul) e *Adenomera sp. O* (amarelo). Barra vertical = amplitude da variação observada (valores máximo e mínimo); Barra horizontal = média e mediana para duração e frequência dominante do canto, respectivamente; Retângulo vertical = média/mediana $\pm$ desvio padrão.

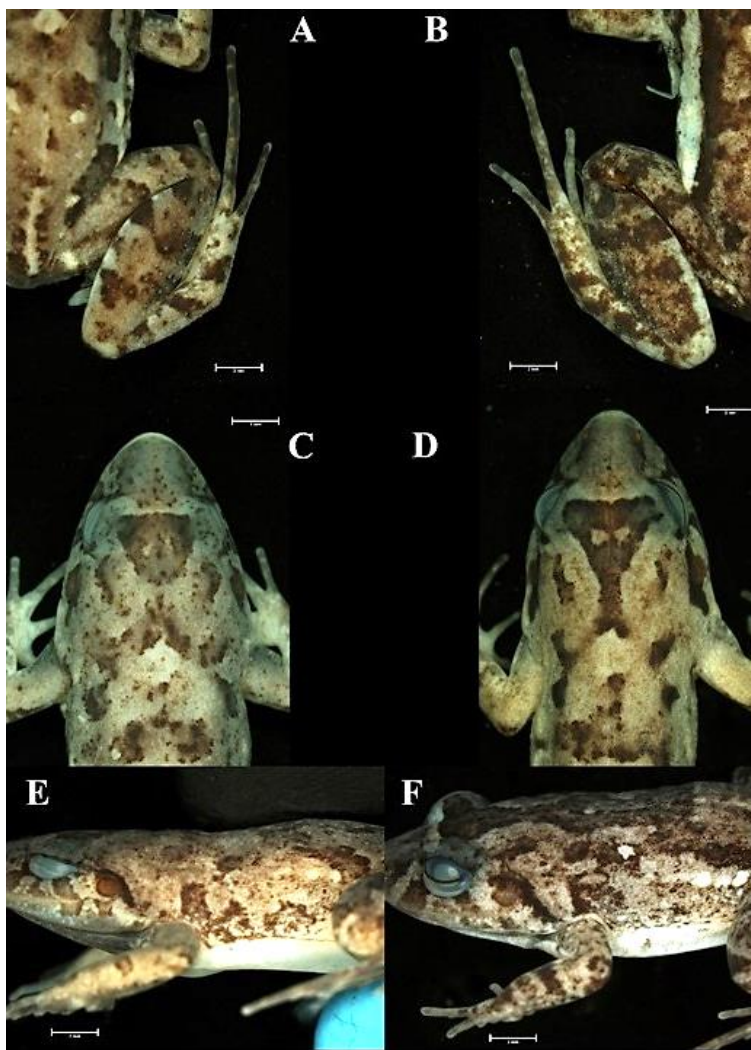


Figura 30. Variação morfológica das espécies candidatas *Adenomera bokermanni* e *Adenomera* sp. O quanto à presença de tubérculos na tíbia (A e B) e padrões de colorido interorbital (C e D) e lateral (E e F). **A, C e F** – *A. bokermanni* (UFMG 10288); **B, D e F** – *A. sp. O* (UFMG 10280).

CARACTERIZAÇÃO TAXÔNOMICA DE ALGUMAS ESPÉCIES DO CLADO MATA ATLÂNTICA DO GÊNERO *ADENOMERA*

O clado Mata Atlântica do gênero *Adenomera* é composto atualmente por sete espécies: *A. ajurauna*, *A. araucaria*, *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. marmorata*, *A. nana* e *A. thomei*, além das seguintes nove espécies candidatas não descritas propostas por Fouquet *et al.* (2014): *A. sp. A*, *A. sp. J*, *A. sp. K*, *A. sp. L*; *A. sp. M*, *A. sp. N*, *A. sp. O*, *A. sp. R* e *A. sp. S*. Após uma análise fenotípica das espécies candidatas, a partir de múltiplas fontes de evidência, conseguimos delimitar 11 das 16 espécies candidatas do clado Mata Atlântica propostas por Fouquet *et al.* (2014). A seguir, apresentamos as considerações taxonômicas das espécies candidatas que representam novas espécies (exceto por *A. sp. A* e *A. sp. N*) e as redescrições de *A. marmorata* e *A. bokermanni*, por apresentarem uma taxonomia que tem sido historicamente confusa. Não foi possível realizar um delineamento das espécies *A. sp. A* e *A. sp. N* por falta de amostragem morfológica (*A. sp. A*) e acústica (*A. sp. A* e *A. sp. N*).

Adenomera marmorata Steindachner, 1867

(Figuras 31, 33)

Leptodactylus trivittatus Lutz, 1926

Leptodactylus (Parvulus) trivittatus – Lutz, 1930

Leptodactylus (Adenomera) marmorata – Parker, 1932

Leptodactylus marmoratus – Parker, 1935

Leptodactylus marmoratus marmoratus – Rivero, 1961

Adenomera marmorata – Heyer, 1974

Leptodactylus (Lithodythes) marmoratus – Frost, Grant, Faivovich, Bain, Haas, Haddad, de Sá, Channing, Wilkinson, Donnellan, Raxworthy, Campbell, Blotto, Moler, Drewes, Nussbaum, Lynch, Green e Wheeler, 2006

Adenomera marmorata – Fouquet, Cassini, Haddad, Pech e Rodrigues, 2014

Adenomera sp. J – Fouquet, Cassini, Haddad, Pech e Rodrigues, 2014

Adenomera sp. K – Fouquet, Cassini, Haddad, Pech e Rodrigues, 2014

Holótipo – NHMW 16453, macho adulto.

Redescrição do holótipo (NHMW 16453) – O espécime encontra-se em um estado de conservação muito ruim, com coloração uniformemente pálida (creme) e ambos os antebraços destacados do resto do corpo (Figura 31). Cabeça mais longa que larga; largura da cabeça 34% do CRC; comprimento da cabeça 39% do CRC. Focinho arredondado em

vistas dorsal e lateral; canthus rostralis indistinto. Região loreal vertical levemente côncava. Narinas não protuberantes, orientadas dorsolateralmente, arredondadas. Olhos proeminentes, diâmetro do olho maior que a distância olho narina. Tímpano distinto, arredondado, com diâmetro menor do que da metade do diâmetro do olho. Prega supratimpânica não aparente. Glândulas mandibulares ausentes. Saco vocal não aparente. Dentes vomerianos não puderam ser observados. Coanas moderadas, arredondadas. Língua alongada; livre nas laterais e na parte posterior da boca. Um par de fendas vocais, paralelas à mandíbula, estendem-se da parte posterior da boca até o primeiro terço da mesma. Braços mal preservados, separados do corpo do espécime. Artelhos livres; extremidade dos artelhos II, III e IV expandidas (extremidade dos artelhos I e V não expandidas). Dois tubérculos metatarsais distintos e levemente protuberantes; interno e externo ovóides, aproximadamente do mesmo tamanho. Devido à condição do pé a fórmula dos artelhos não pode ser observada. Tubérculos subarticulares desenvolvidos e arredondados. Membros posteriores pequenos e robustos; comprimento da coxa um pouco menor que comprimento da tíbia (CF 40% do CRC e TIB 44% do CRC). Prega metatarsal ausente. Prega tarsal presente, pouco desenvolvida, estendendo-se da base do calo metatarsal externo até a junção da tíbia e do tarso. Superfície ventral do tarso com poucos tubérculos. Sola do pé com inúmeros tubérculos pequenos e distintos. Dorso liso; glândulas anais presentes somente no lado esquerdo do corpo, arredondadas, da mesma cor do espécime.

Medidas do holótipo: CRC 22,2 mm; CC 8,7 mm; LC 7,5 mm; DO 2,1 mm; DT 1,0 mm; DON 1,3 mm; DIN 1,4 mm; DIO 2,4 mm; CF 8,8 mm; TIB 9,7 mm; TAR 5,3 mm. Medidas dos membros anteriores e dos pés do indivíduo não puderam ser tomadas devido ao estado de conservação do espécime.

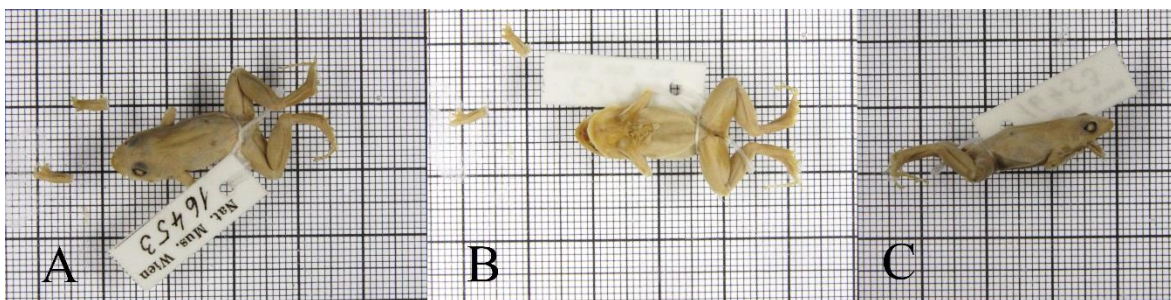


Figura 31. Holótipo de *Adenomera marmorata* (NHMW 16453), macho. **A** – vista dorsal; **B** – vista ventral; **C** – vista lateral.

Localidade-tipo – O espécime foi coletado durante a expedição austríaca Fragata Novara no estado do Rio de Janeiro (Steindachner, 1867). Durante sua breve estadia em território brasileiro (5 de agosto – 31 agosto de 1857), os tripulantes da expedição austríaca Fragata Novara circularam por áreas urbanas da cidade do Rio de Janeiro e percorreram os caminhos que conectam o Corcovado até a Lagoa da Tijuca em Jacarepaguá. A equipe também realizou uma viagem até a cidade de Petrópolis, onde foram conduzidos por transporte férreo até a estação de Fragoso (município de Magé) e de lá por transporte rodoviário até a cidade de Petrópolis (Scherzer, 1861; Figura 32).

Durante excursões a campo nos municípios do Rio de Janeiro (áreas urbanas e Floresta da Tijuca), Guapimirim (Parque Nacional da Serra dos Órgãos) e Petrópolis, apenas uma espécie do gênero *Adenomera* foi coletada por nós. Uma vez que a equipe científica da expedição Fragata Novara percorreu o caminho na Floresta da Tijuca com o intuito de conhecer os aspectos naturais do local, é provável que esta seja a localidade tipo da espécie. É improvável que o holótipo de *A. marmorata* tenha sido coletado em áreas urbanas da cidade ou durante a viagem até Petrópolis, pois o trajeto até o local foi realizado por transporte férreo seguido por transporte rodoviário e o objetivo da viagem era reconhecer e descrever a

ocupação alemã do local (Scherzer, 1861). Assim, restringimos a localidade tipo de *A. marmorata* para o maciço da Tijuca, município do Rio de Janeiro, Brasil.

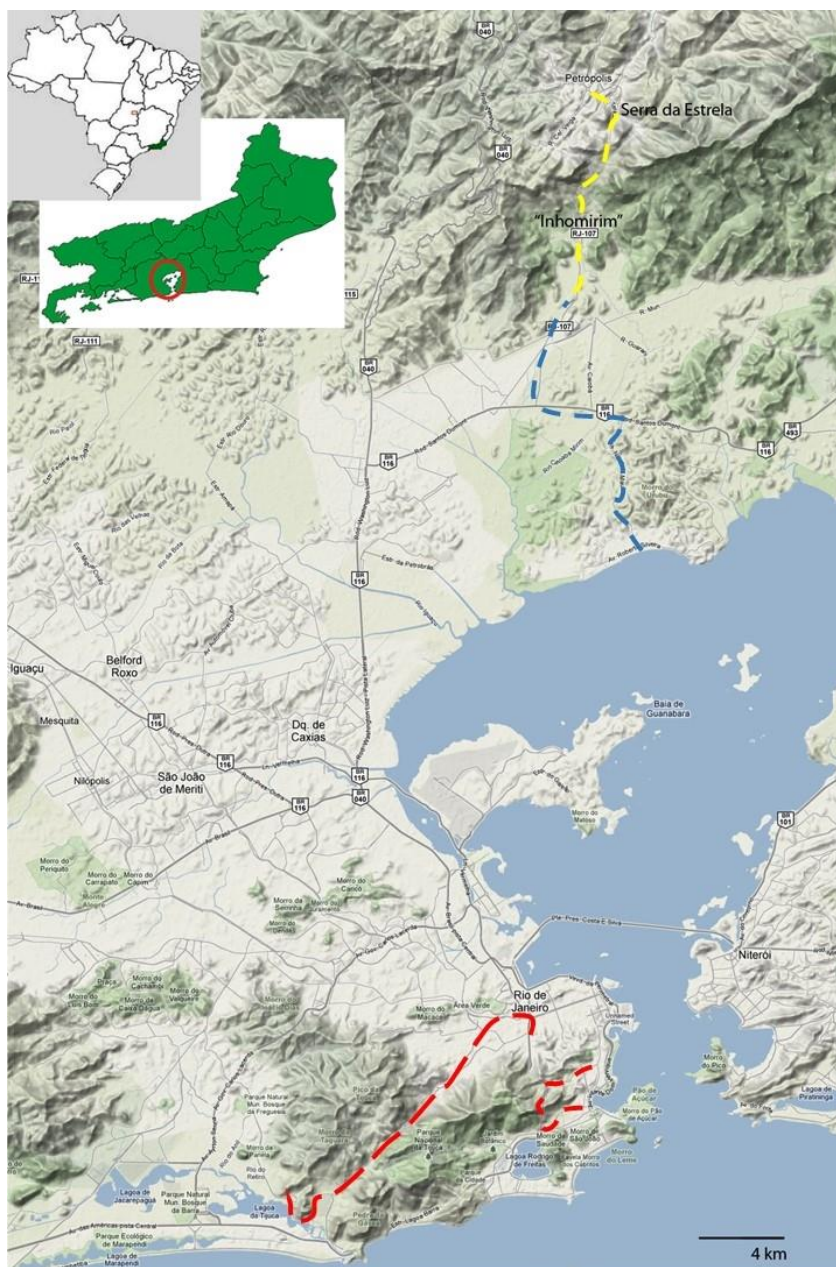


Figura 32. Área percorrida pelos tribulantes da expedição Fragata Novara (Agosto, 1857). Em vermelho trajeto realizado para reconhecimento das áreas florestadas da cidade do Rio de Janeiro e localidade tipo da espécie; em azul trajeto percorrido via transporte férreo; em amarelo trajeto percorrido via transporte rodoviário (figura modificada de Cassini *et al.*, 2010).

Diagnose – *Adenomera marmorata* se distingue das demais espécies do gênero pelo seguinte conjunto de caracteres: 1) extremidade distal dos artelhos II, III e IV expandidos; 2) lateral do corpo com manchas marrom escuro; 3) girino endotrófico; 4) canto de anúncio não pulsionado; 5) duração do canto 0,02 – 0,15 segundos; 6) frequência dominante 3790 – 5168 Hz.

Descrição do macho baseada no espécime CFBH 34404 (Figura 33) – Cabeça mais longa que larga, focinho subelíptico em vista dorsal, acuminado em vista lateral; narinas redondas, não protuberantes, localizadas dorsolateralmente, mais próximas à ponta do focinho do que do olho; canthus rostralis indistinto; região loreal oblíqua, côncava; anel timpânico distinto; diâmetro do tímpano quase a metade do diâmetro do olho; prega supratimpânica desenvolvida, partindo da porção posterior do olho até a inserção do braço; glândulas parotóides pouco desenvolvidas; glândula pós-comissural presente, pouco desenvolvida. Dorso marmoreado; presença de uma mancha interorbital com duas manchas mais claras no seu interior; presença de uma faixa dorsolateral glandular que se estende desde da altura da região umeral até a porção anterior da região inguinal. Ssaco vocal subgular, não expandido lateralmente. Coanas grandes, ovais, muito separadas entre si; duas fileiras de dentes vomerianos localizadas posteriormente e lateralmente às coanas. Língua oval, bem desenvolvida, longa com extremidade posterior livre, dentes maxilares e pré-maxilares não visíveis. Região abdominal homogeneamente creme. Glândula ectopeitoral entumescida. Braços curtos, finos; dedos finos e curtos, sem franjas ou superfície serrada na parte interna dos dedos III e IV; comprimento dos dedos $II > III = V < IV$; ponta dos dedos não expandidas;

calo nupcial ausente; tubérculos subarticulares desenvolvidos, únicos, redondos; tubérculo metacarpal externo grande e redondo, cobrindo 2/3 da região carpal; tubérculo metacarpal interno, elíptico, menor do que o tubérculo metacarpal externo; tubérculos supranumerários presentes, em pouca quantidade e pouco desenvolvidos. Pernas curtas, com barras transversais marrom e região ventral creme. Tíbia do mesmo tamanho que a coxa, tubérculos na tíbia presentes, extremidade distal dos artelhos I e V não expandidas, extremidade distal dos artelhos II, III e IV pouco expandidas; artelhos finos e livres, sem franjas ou fímbrias; tamanho dos artelhos $I < II < III > V < IV$; prega tarsal pouco desenvolvida, formada por diminutos tubérculos; tubérculos subarticulares presentes, pouco desenvolvidos e elípticos; tubérculo metatarsal interno desenvolvido e redondo; tubérculo metatarsal interno menor e cônico; tubérculo tarsal ausente; tubérculos supranumerários na região plantar presentes.

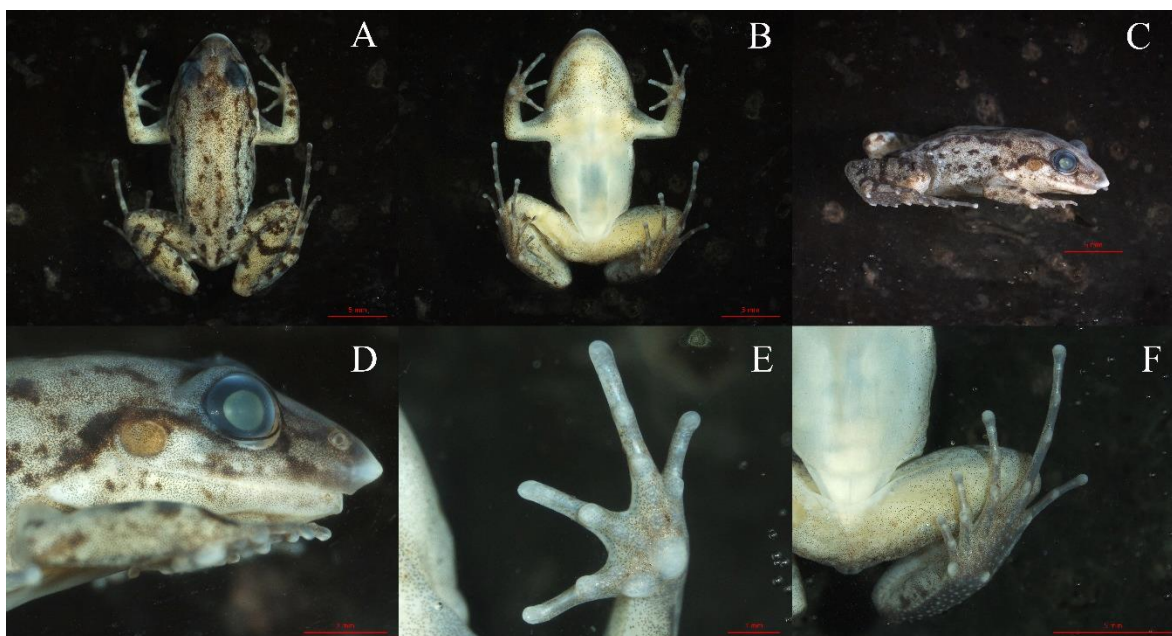


Figura 33. *Adenomera marmorata* (CFBH 34404), macho, da Floresta da Tijuca, município do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **A** – Vista dorsal; **B** – vista

ventral; **C** – vista lateral; **D** – vista lateral da cabeça; **E** – vista ventral da mão; **F** – vista ventral do pé.

Comparação com outras espécies do gênero (Quadro 1) – Por apresentar canto de anúncio não pulsionado, *Adenomera marmorata* se distingue de *A. araucaria*, *A. coca*, *A. cotuba*, *A. diptyx*, *A. heyeri*, *A. hylaedactyla*, *A. juikitam*, *A. martinezi*, *A. simonstuarti* e *A. thomei* (pulsinado nestas espécies); e por apresentar a região distal dos artelhos expandidas *A. marmorata* se distingue de *A. araucaria*, *A. bokermanni*, *A. coca*, *A. cotuba*, *A. diptyx*, *A. engelsi*, *A. heyeri*, *A. juikitam*, *A. martinezi* e *A. thomei* (extremidade distal dos artelhos não expandidas nestas espécies). Adicionalmente, *A. marmorata* se distingue de *A. diptyx*, *A. saci* e *A. thomei* por possuir girino endotrófico (girino exotrófico nestas espécies).

Adenomera marmorata se distingue de *A. lutzi* por não apresentar coloração de manchas pretas num fundo amarelo, laranja ou vermelho na região posterior da coxa (presente em *A. lutzi*) e por não apresentar tubérculos no antebraço (presentes em *A. lutzi*); de *A. hylaedactyla* por não apresentar faixas glandulares dorsais (presente em *A. hylaedactyla*); de *A. simonstuarti* pela ausência de uma faixa lateral preta no antebraço (presente em *A. simonstuarti*); de *A. martinezi* e *A. saci* pela ausência de 4 a 6 fileiras de longitudinais de marcas circulares pretas dispostas simetricamente no dorso (presentes em *A. martinezi* e *A. saci*); de *A. nana* e *A. araucaria* por apresentar manchas marrom escuras na lateral do corpo (ausentes ou presença de pequenos pontos marrons escuros em *A. nana* e *A. araucaria*) e de machos de *A. engelsi* por apresentar saco vocal simples, sem expansão lateral (expandido lateralmente, formando uma prega no braço em *A. engelsi*).

O canto de *A. marmorata* se distingue do de *A. ajurauna*, *A. heyeri* e *A. juikitam* por ser mais curto (0,02 – 0,15 segundos em *A. marmorata*, 0,13 – 0,32 segundos em *A. ajurauna*, 0,14 – 0,19 segundos em *A. heyeri* e 0,15 – 0,20 segundos em *A. juikitam*); de *A. andreae*, *A. martinezi*, *A. saci* e *A. simonstuarti* por apresentar a frequência dominante no segundo harmônico (frequência dominante no primeiro harmônico nestas espécies); de *A. bokermanni* por apresentar maior valor de frequência dominante (3445 – 5168 Hz em *A. marmorata* e 2756 – 3617 Hz em *A. bokermanni*) e de *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. nana*, *A. saci* e *A. martinezi* por apresentar modulação de frequência ascendente (sem modulação de frequência nestas espécies).

Padrão de coloração – Pernas com faixas marrom escuro transversais, interior da coxa com melanóforos distribuídos irregularmente sob fundo creme. O calcanhar pode ou não apresentar mancha laranja ou avermelhada. Ventre creme, região gular com pequenos pontos de melanóforos concentrados lateralmente. A lateral do corpo apresenta manchas marrom escuros ou pretas dispersas. O dorso do corpo apresenta manchas marmoreadas dispersas irregularmente, não formando um padrão claro. Duas listras dorsolaterais marrom escuros e/ou duas faixas dorsolaterais mais externas de cor creme, laranja ou vermelho se estendendo da região posterior do olho até a região inguinal podem estar presentes em alguns indivíduos. Na região dorsal da cabeça há uma faixa ou um triângulo invertido ou uma barra homogeneamente marrom escuro, estando mais ou menos evidente se o indivíduo apresenta coloração geral do corpo cinza claro ou cinza escuro respectivamente. Da região posterior do olho parte uma faixa marrom escuro que contorna o tímpano e se estende até a junção com o braço no tronco. Antebraço apresenta faixas transversais ou manchas irregulares marrom escuros e a mão apresenta coloração dorsal marmoreada, sem padrão evidente. Em espécimes

preservados em álcool 70%, a coloração geral cinza tende a ficar amarelada com o tempo, evidenciando as manchas dorsais e faixas dorsolaterais marrom escuro. As manchas do calcanhar e as faixas dorsolaterais creme, laranja ou vermelho ficam brancas quando preservadas em álcool 70%.

Variação morfológica – Tubérculos na tíbia podem estar presentes ou ausentes em determinadas populações da espécie (Figura 21). Os indivíduos de *A. marmorata* da Ilha de Alcatrazes são muito maiores que os demais indivíduos de outras populações da espécie (Figuras 19 e 20). Dentro de uma mesma população, podemos encontrar indivíduos com o formato do focinho subelíptico, subovóide e arredondado; com a região loreal, vertical ou oblíqua. Os tubérculos supranumerários da região palmar podem ser distintos ou não.

Girino – O girino de *A. marmorata* foi descrito por Heyer (1990). Apesar de apresentar espiráculo, este deve ser vestigial, pois o girino é endotrófico e permanece durante todo o seu desenvolvimento no ninho de espuma, dentro de uma câmara subterrânea construída pelo macho (Figura 34).

Quadro 1. Principais características morfológicas e bioacústicas usadas na caracterização taxonômica e delimitação específica em *Adenomera* (continua).

	Artelhos III e IV	Manchas na lateral do corpo	Faixas glandulares dorsais	Saco vocal expandido lateralmente	Girino	Referências
<i>A. ajurauna</i>	Expandidos	Presentes	Ausentes	Não	?	presente estudo
<i>A. andreae</i>	Expandidos	Presentes	Ausentes	Não	Endotrófico	presente estudo; Angulo e Ichochea., 2003
<i>A. araucaria</i>	não expandidos	Ausentes	Ausentes	Não	?	presente estudo; Kwet e Angulo 2002
<i>A. bokermanni</i>	não expandidos	Presentes	Ausentes	Sim	Endotrófico	presente estudo
<i>A. coca</i>	não expandidos	?	Ausentes	Sim	?	Angulo e Reichle, 2008
<i>A. cotuba</i>	não expandidos	Ausentes	Presentes	Sim	?	Carvalho e Giaretta, 2013a
<i>A. diptyx</i>	não expandidos	Ausentes	Presentes	Não	Exotrófico	Márquez <i>et al.</i> , 1995
<i>A. engelsi</i>	não expandidos	Presentes	Ausentes	Sim	?	presente estudo
<i>A. heyeri</i>	não expandidos	Ausentes	Presentes	Não	?	Boistel <i>et al.</i> , 2006
<i>A. hylaedactyla</i>	não expandidos	Presentes	Presentes	Sim	Endotrófico	presente estudo; Angulo <i>et al.</i> , 2003; Menin <i>et al.</i> , 2009
<i>A. juikitam</i>	não expandidos	Ausentes	Presentes	Sim	?	Carvalho e Giaretta, 2013a
<i>A. lutzi</i>	Expandidos	Presentes	Ausentes	Não	?	Kok <i>et al.</i> , 2007
<i>A. marmorata</i>	Expandidos	Presentes	Ausentes	Não	Endotrófico	presente estudo
<i>A. martinezi</i>	não expandidos	Presentes	Presentes	Não	?	Carvalho e Giaretta, 2013b
<i>A. nana</i>	Expandidos	Ausentes	Ausentes	Não	?	presente estudo
<i>A. saci</i>	não expandidos	Presentes	Presentes	Não	Exotrófico	Carvalho e Giaretta, 2013b
<i>A. simonstuarti</i>	Expandidos	?	Ausentes	Não	?	Angulo e Ichochea, 2010
<i>A. sp. n. "canto curto"</i>	Expandidos	Ausentes	Ausentes	Não	?	presente estudo
<i>A. sp. n. "catarinense"</i>	Expandidos	Presentes	Ausentes	Não	?	presente estudo
<i>A. sp. n. "sambaqui"</i>	não expandidos	Presentes	Ausentes	Não	?	presente estudo
<i>A. thomei</i>	não expandidos	Presentes	Ausentes	Não	Exotrófico	presente estudo; Almeida e Angulo, 2002

Quadro 1 (continuação). Principais características morfológicas e bioacústicas usadas na caracterização taxonômica e delimitação específica em *Adenomera*. Harmônico FD = em qual harmônico encontra-se a frequência dominante da nota.

	Canto pulsionado	Modulação de frequência	Duração do canto (segundos)	Frequência dominante (Hz)	Harmônico FD	Referência
<i>A. ajurauna</i>	não	ascendente	0,13 – 0,32	4134 – 4996	segundo	presente estudo
<i>A. andreae</i>	não	ascendente	0,04 – 0,09	4654 – 5339	segundo	presente estudo; Angulo <i>et al.</i> , 2003
<i>A. araucaria</i>	sim	ascendente	0,09 – 0,18	4478 – 5340	segundo	presente estudo; Kwet e Angulo 2002
<i>A. bokermanni</i>	não	sem modulação	0,06 – 0,13	2756 – 3618	segundo	presente estudo
<i>A. coca</i>	sim	sem modulação	0,11 – 0,14	3449 – 3748	segundo	Angulo e Reichle, 2008
<i>A. cotuba</i>	sim	ascendente	0,08 – 0,14	3500 – 3800	segundo	Carvalho e Giaretta, 2013a
<i>A. diptyx</i>	sim	ascendente	0,06 – 0,09	4200 – 4500	segundo	Márquez <i>et al.</i> , 1995
<i>A. engelsi</i>	não	sem modulação	0,07 – -,19	3617 – 4306	segundo	presente estudo
<i>A. heyeri</i>	sim	ascendente	0,14 – 0,19	3570 – 3840	segundo	Boistel <i>et al.</i> , 2006
<i>A. hylaedactyla</i>	sim	ascendente	0,03 – 0,06	3400 – 4358	segundo	presente estudo; Angulo <i>et al.</i> , 2003; Menin <i>et al.</i> , 2009
<i>A. juikitam</i>	sim	ascendente	0,15 – 0,20	3780 – 4180	segundo	Carvalho e Giaretta, 2013a
<i>A. lutzi</i>	não	ascendente	0,04 – 0,06	3273 – 3620	segundo	Kok <i>et al.</i> , 2007
<i>A. marmorata</i>	não	sem modulação ou ascendente	0,02 – 0,15	3790 – 5168	segundo	presente estudo
<i>A. martinezi</i>	sim	sem modulação	0,06 – 0,15	1880 – 2060	primeiro	Carvalho e Giaretta, 2013b
<i>A. nana</i>	não	sem modulação	0,06 – 0,12	4651 – 5512	segundo	presente estudo
<i>A. saci</i>	não	sem modulação	0,07 – 0,24	1690 – 2250	primeiro	Carvalho e Giaretta, 2013b
<i>A. simonstuarti</i>	sim	ascendente	0,06 – 0,07	1813 – 2035	primeiro	Angulo e Icochea, 2010
<i>A. sp. n. "canto curto"</i>	não	ascendente	0,01 – 0,10	4996 – 6000	segundo	presente estudo
<i>A. sp. n. "catarinense"</i>	pulsionado apenas no final do canto	ascendente	0,06 – 0,12	4823 – 5685	segundo	presente estudo
<i>A. sp. n. "sambaqui"</i>	não	sem modulação	0,05 – 0,20	2928 – 3445	segundo	presente estudo
<i>A. thomei</i>	sim	sem modulação	0,11 – 0,33	3445 – 5562	segundo	presente estudo; Almeida e Angulo, 2002



Figura 34. Ninho de espuma com juvenis em diferentes estágios de desenvolvimento de *Adenomera marmorata*, Estação Ecológica de Boracéia, município de Salesópolis, estado de São Paulo, Brasil. Fotos: Mauro Teixeira Júnior.

Vocalização – Foram analisados 47 indivíduos de 10 localidades (Rio de Janeiro – RJ, Maricá – RJ, Gupimirim – RJ, Petrópolis – RJ, Nazaré Paulista – SP, Paranapiacaba, Santo André – SP, Mogi das Cruzes – SP, Itatiaia – RJ, Ubatuba – SP e São Luís do Paraitinga – SP), totalizando 1004 cantos. O canto de anúncio de *A. marmorata* é composto por uma única nota, não pulsionada. Possui canto curto (0,02 – 0,15 segundos) e frequência dominante no segundo harmônico (3445 – 5168 Hz). As populações de canto mais longo são as do município de Itatiaia – RJ e as de canto mais curto do município de Mogi das Cruzes – SP. As populações com canto de anúncio com os menores valores de frequência dominante são de São Luís do Paraitinga – SP e as de maior valor são de Paranapiacaba, Santo André – SP (Figura 19). O ritmo de emissão de canto é de 0,45 – 0,83 cantos por segundos. O canto de anúncio de *A. marmorata* apresenta modulação de frequência ascendente; no entanto, alguns indivíduos do município de Itatiaia – RJ (não todos) não apresentaram modulação de frequência.

História Natural – *Adenomera marmorata* ocorre em bordas de mata. O macho vocaliza no folhiço exposto ou não, nas proximidades da toca construída para oviposição. A

atividade de vocalização pode ocorrer durante todo o dia em épocas chuvosas, ou a partir do entardecer até as primeiras horas da noite. Por duas ocasiões pudemos registrar o canto de anúncio de machos dentro de sacos de coleta durante o amanhecer.

Distribuição geográfica – *Adenomera marmorata* está distribuída na Serra do Mar, desde a cidade de Maricá – RJ até Paranapiacaba – SP, e algumas localidades mais continentais, entre a Serra do Mar e a Serra da Mantiqueira, como em Nazaré Paulista – SP e Santa Branca – SP (= *A. marmorata*, *A. sp. A*, *A. sp. K* e *A. sp. J* na Figura 4).

Comentários – *Adenomera marmorata* tem sido a identificação tentativa automática dos coletores, ou no coloquial, o saco de gatos para acomodar as populações distribuídas na Mata Atlântica com identidade dúbia. As espécies candidatas *A. sp. J* e *A. sp. K* (Fouquet *et al.*, 2014) apresentam, dentro de suas variações morfológicas e bioacústica, sobreposição com *A. marmorata*, não sendo possível diferenciá-las e diagnosticá-las entre si.

Nas proximidades dos locais onde ocorre *Adenomera marmorata*, também pode ocorrer *A. thomei* ou *A. ajurauna*. No entanto, *A. thomei* ocupa ambientes abertos ou antropizados, não associados à mata. Já *Adenomera ajurauna* ocorre dentro de mata, em sintopia com *A. marmorata*, porém em microambientes diferentes (*A. marmorata* sempre em borda de mata).

Adenomera bokermanni (Heyer, 1973)

(Figura 36)

Leptodactylus bokermanni Heyer, 1973 (parte)

Adenomera bokermanni – Heyer, 1974

Adenomera sp. 4 – Kwet, 2006

Leptodactylus (Lithodythes) bokermanni – Frost, Grant, Faivovich, Bain, Haas, Haddad, de Sá, Channing, Wilkinson, Donnellan, Raxworthy, Campbell, Blotto, Moler, Drewes, Nussbaum, Lynch, Green e Wheeler, 2006

Adenomera bokermanni – Fouquet, Cassini, Haddad, Pech e Rodrigues, 2014

Material tipo – Na descrição original Heyer (1973) informa medidas e aspectos da morfologia externa de machos e fêmeas da série tipo da espécie. O autor observou diferenças morfológicas entre os indivíduos da série tipo e atribuiu estas diferenças à variação intraespecífica. Entretanto, o mesmo autor, posteriormente, reconhece que a série tipo de *A. bokermanni* pode ser composta por pelo menos duas espécies: uma de canto pulsionado e outra de canto não pulsionado (Heyer, 1984). Após uma extensa análise filogenética do clado Mata Atlântica do gênero *Adenomera*, pudemos constatar que *A. bokermanni* possui distribuição restrita ao litoral paranaense, e por isso, os parátipos das demais localidades correspondem a distintas espécies que não *A. bokermanni*. Os únicos espécimes da série tipo que foram encontrados no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo foram os seguintes parátipos: MZUSP 508 (macho), do município de Iguape, estado de São Paulo; MZUSP 15781 (fêmea), no município de Morretes, estado do Paraná; e MZUSP 25455

(macho), do município de Santa Branca, estado de São Paulo. Todos os indivíduos encontram-se com acrônimo diferente do descrito em Heyer (1973; DV – Departamento de Vertebrados), pois era o antigo acrônimo usado antes de MZUSP. Dado o grande polimorfismo apresentado no gênero, é difícil atribuir sem dúvidas cada espécime da série tipo a uma determinada espécie apenas com base na morfologia externa (i.e., sem dados acústicos).

O parátipo MZUSP 25455 (Figura 35) foi coletado no município de Santa Branca – SP. Nesta localidade amostramos duas espécies: *A. marmorata* e *A. thomei* (Apendice 2). Como o parátipo MZUSP 25455 apresenta um triângulo interorbital no padrão de máscara (ausente em *A. marmorata*) e extremidades distais dos artelhos não expandidas (expandidas em *A. marmorata*), atribuímos este espécime a *A. thomei*.

Não é possível acessar sem dúvidas a identidade do espécime MZUSP 15781 (Figura 32), coletado em Porto de Cima, município de Morretes – PR. Em excursões a campo, pudemos coletar apenas uma espécie candidata nesta localidade: *Adenomera* sp. N. Contudo, machos da espécie candidata *A. sp. N* estão entre os menores de todos os adultos das espécies do gênero *Adenomera* (CRC 15,76 – 16,64 mm, Figura 10) e o parátipo MZUSP 15781 possui tamanho corporal de 23,52 mm. Como *A. bokermanni* e *A. sp. O* não são morfologicamente distintas, não é possível atribuir este parátipo a uma ou a outra espécie sem outras fontes de evidência.

No município de Iguape – SP, amostramos duas espécies candidatas: *A. sp. O* e *A. sp. S*. Uma vez que o parátipo MZUSP 508 (coletado no município de Iguape; Figura 35), apresenta tamanho corporal grande (CRC = 22,87 mm) e extremidades distais dos artelhos

não expandidas, atribuímos este parátipo como pertencente à espécie candidata *A. sp. O* (= *A. sp. n* “sambaqui” mais adiante).

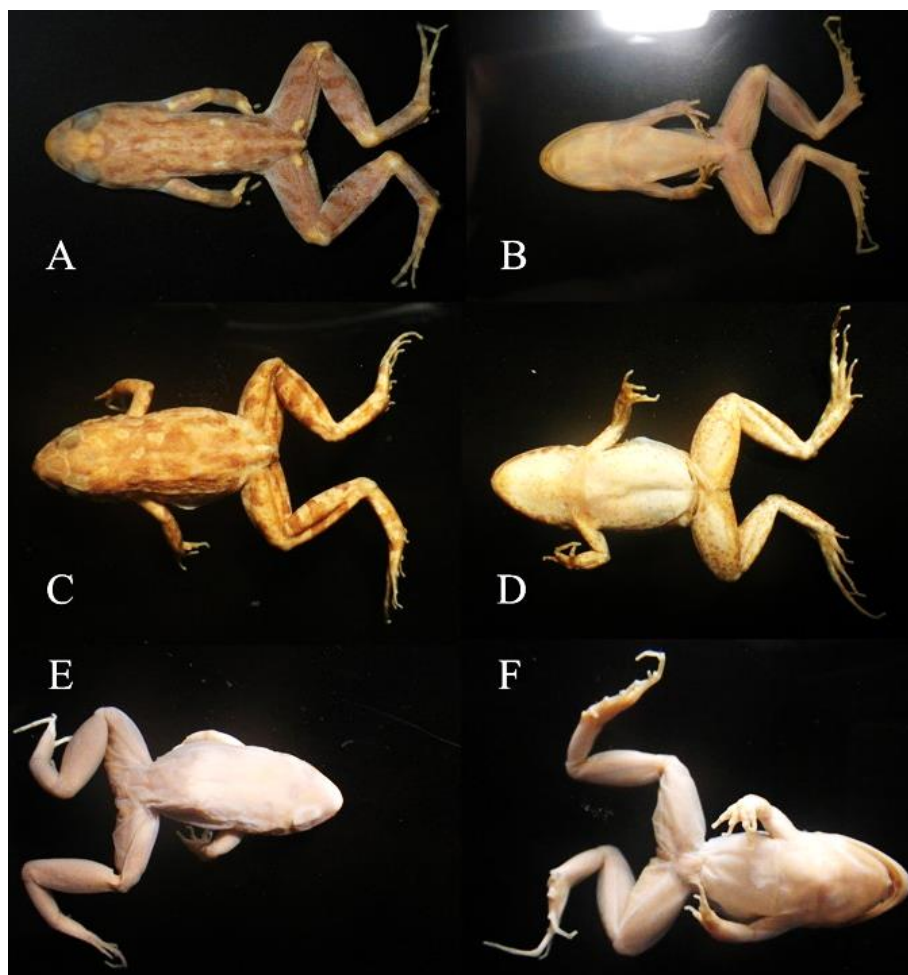


Figura 35. Material tipo de *A. bokermanni* encontrado no Museu de Zoologia do Estado de São Paulo (MZUSP). **A e B** – MZUSP 25455, fêmea, coletada no município de Santa Branca - SP (= *A. thomei*; CRC = 21,16mm); **C e D** – MZUSP 15781, macho coletado no município de Morretes – PR (= *A. bokermanni* ou *A. sp. O*; CRC = 23,52mm); **E e F** – MZUSP 508, macho, coletado no município de Iguape – SP [= *A. sp. O* (Fouquet *et al.*, 2014) = *A. sp. n.* “sambaqui”; CRC = 22,87mm].

Não encontrados na coleção MZUSP os demais parátipos de *A. bokermanni* e, portanto, não foram analisados por nós. Assim, não é possível atribuir indubitavelmente a identidade dos demais parátipos de *A. bokermanni*, pois uma situação comum na Mata

Atlântica é a ocorrência de pelo menos duas espécies na mesma localidade. No entanto, Heyer (1973) mencionou que os parátipos dos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo (WCAB 18735, WCAB 30860, WCAB 30861, WCAB 30035, WCAB 30097 – 30102, WCAB 34463 – 34476, WCAB 36957 – 36960, WCAB 37628 – 37629; DZ 25071, DZ 6388, DZ 530, USNM 96997, USNM 99122, UMMZ 109990) diferem da população austral do estado do Paraná pelo formato do corpo, formato da cabeça e pelas extremidades dos artelhos não expandidas. Embora estes exemplares não tenham sido analisados, todas as localidades dos parátipos coletados no estado do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo (exceto pelo município de Iguape, como já discutido) apresentam duas espécies: *A. marmorata* e *A. thomei*. Uma vez que *A. marmorata* apresenta as extremidades distais dos artelhos expandidas, presumimos que estes parátipos tratam-se na verdade de *A. thomei*, que não apresenta expansões nas extremidades dos artelhos. De fato, espécimes posteriormente coletados em Poços de Caldas – MG (mesma localidade do parátipo WCAB 18735) e Botucatu – SP (mesma localidade do parátipo DZ 6388) e analisados por nós, correspondem a espécie *A. thomei*.

O lote de girinos utilizados por Heyer (1973) para a descrição da forma larval de *A. bokermanni* (WCAB 34462) é proveniente do município de Campos do Jordão – SP. A descrição do girino de *A. bokermanni* (Heyer, 1973) é muito semelhante à descrição de *A. thomei* (Almeida e Angulo, 2006, figuras 4 e 5). Ambos os trabalhos descrevem girinos com aberturas nasais mais próximas da ponta do focinho do que do olho; distância entre narinas pouco menor ou igual à distância interorbital; abertura sinistral do espiráculo direcionada posterolateralmente, com tubo espiracular curto, posicionado no meio entre a ponta do focinho e a junção do corpo com a cauda; altura máxima do corpo pouco maior do que a altura da cauda; origem da membrana caudal dorsal na junção do corpo com a cauda;

membranas caudais dorsal e ventral pouco arqueadas; disco oral circundado por uma única fileira de papilas com um hiato na região rostral e papilas submarginais ausentes.

Através da análise dos desenhos dos girinos de cada um dos trabalhos é possível observar que o girino de Almeida e Angulo (2006) apresenta olhos maiores e localizados mais dorsalmente do que o girino ilustrado por Heyer (1973); que a região dorsal do corpo mostrada em Almeida e Angulo (2006) é mais plana e que a boca ilustrada em Heyer (1973) é mais ventral. Apesar dos girinos de Almeida e Angulo (2006) e Heyer (1973) claramente pertencerem a estágios de desenvolvimento distintos, as diferenças notadas entre eles poderiam ser explicadas devido à posição (inclinação) relativa do exemplar ilustrado do desenhista. Já a pequena diferença na fórmula dentária: 2(2)/3 em Almeida e Angulo (2006) e 2/3(2) ou 2/3 em Heyer (1973) pode ser explicada por variação intraespecífica. Kolenc *et al.* (2008) observaram variações intraespecíficas muito maiores na fórmula dentária em diferentes espécies de *Hypsiboas* e Orrico *et al.* (2009) levantam a hipótese de que distintas fórmulas dentárias refletem, na verdade, uma diferença ontogenética, em semaforontes diferentes da mesma espécie. Por estes motivos apresentados, o lote de girinos listado como parátipos de *A. bokermanni* não deve ser considerado como pertencente a esta espécie. A redescrição do girino da localidade tipo é apresentada mais adiante.

Localidade-tipo – Município de Paranaguá, estado do Paraná, Brasil (Heyer, 1973).

Diagnose – *Adenomera bokermanni* se distingue das demais espécies do gênero pelo seguinte conjunto de caracteres: 1) extremidade distal dos artelhos não expandidos; 2) lateral do corpo com manchas marrom escuro; 3) girino endotrófico; 4) canto de anúncio não pulsionado e sem modulação de frequência; 5) duração do canto 0,06 – 0,13 segundos; 6) frequência dominante 2756 – 3618 Hz; 6) duas transformações nas posições 268 e 412 do

fragmento mitocondrial CO1 (A →G; Apêncides 3); 7) duas transformações nas posições 48 e 352 do fragmento mitocondrial CytB (A →G e A →G, respectivamente; Apêndice 3).

Descrição do espécime UFMG 10291 (Figura 36) – Cabeça mais longa que larga, focinho subelíptico em vista dorsal, acuminado em vista lateral; narinas redondas, não protuberantes, localizadas lateralmente, mais próximas à ponta do focinho do que do olho; *canthus rostralis* indistinto; região loreal oblíqua, reta; anel timpânico distinto; diâmetro do tímpano cerca de metade do diâmetro do olho; prega supratimpânica desenvolvida partindo da porção posterior do olho até a inserção do braço; glândulas parotóides pouco desenvolvidas; glândula pós-comissural presente, pouco desenvolvida. Dorso marmoreado; presença de uma mancha interorbital em formato de triângulo invertido, homogeneamente marrom; presença de uma faixa dorsolateral glandular pouco desenvolvida que se estende desde da altura da região umeral até a porção anterior da região inguinal. Saco vocal subgular, não expandido lateralmente. Coanas grandes, ovais, muito separadas entre si; duas fileiras de dentes vomerianos localizados posteriormente e lateralmente às coanas. Língua oval, bem desenvolvidos, longa com extremidade posterior livre. Dentes maxilares e pré-maxilares não visíveis. Região abdominal homogeneamente creme. Gândula ectopeitoral entumecida. Braços curtos e finos; dedos finos e curtos, sem franjas nem superfície serrada na parte interna dos dedos III e IV; comprimento dos dedos II = III > V < IV; ponta dos dedos não expandidas; calo nupcial ausente; tubérculos subarticulares desenvolvidos, únicos, redondos; tubérculo metacarpal externo redondo, cobrindo metade da região carpal; tubérculo metacarpal interno elíptico, menor do que o tubérculo metacarpal externo; tubérculos supranumerários presentes, em pouca quantidade e pouco desenvolvidos. Pernas curtas, com

faixas marrom dorsais e região ventral creme. Tíbia pouco maior que a coxa; tubérculos na tíbia presentes em pouca quantidade, extremidade distal dos artelhos não expandidas; artelhos sem franjas ou fímbrias; tamanho dos artelhos $I < II < III = V < IV$; prega tarsal ausente; tubérculos subarticulares presentes, pouco desenvolvidos, elípticos; tubérculo metatarsal externo, desenvolvido, redondo; tubérculo metatarsal interno menor, cônico; tubérculo tarsal ausente; tubérculos supranumerários da região plantar presentes.

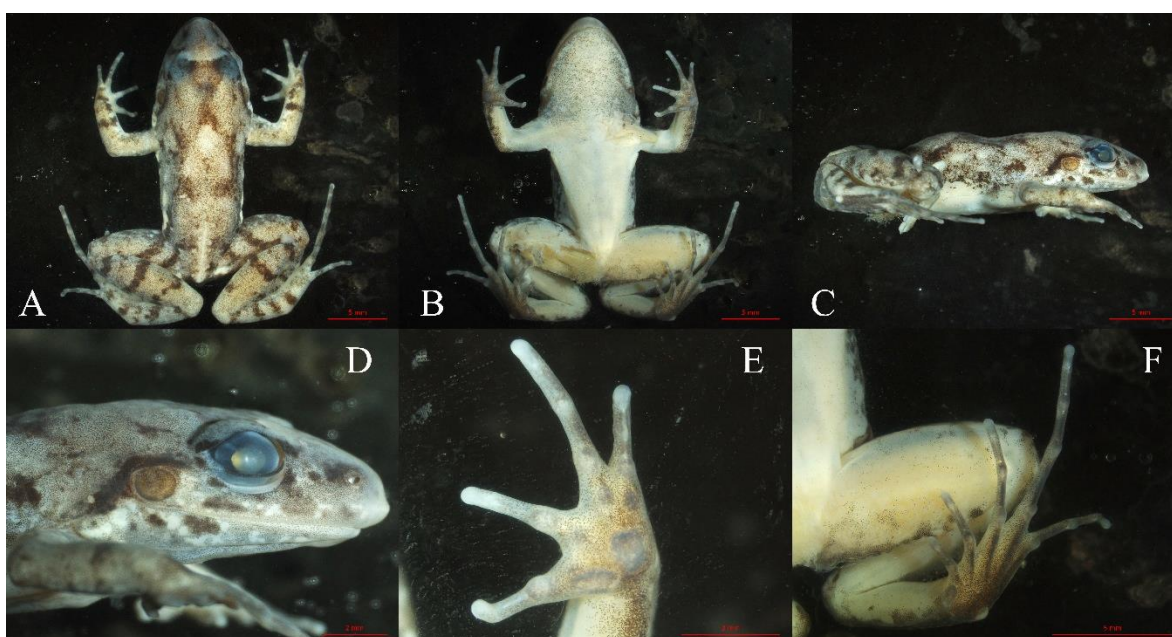


Figura 36. *Adenomera bokermanni* (UFMG 10291), macho, do município Paranaguá, estado do Paraná, Brasil. **A** – vista dorsal; **B** – vista ventral; **C** – vista lateral; **D** – vista lateral da cabeça; **E** – vista ventral da mão; **F** – vista ventral do pé.

Comparação com outras espécies (Quadro 1) – Por apresentar canto de anúncio não pulsionado, *Adenomera bokermanni* se distingue de *A. araucaria*, *A. coca*, *A. cotuba*, *A. diptyx*, *A. heyeri*, *A. hylaedactyla*, *A. juikitam*, *A. martinezi*, *A. simonstuarti* e *A. thomei* (pulsinado nestas espécies); e por apresentar as falanges distais dos artelhos não expandidas

A. bokermanni se distingue de *A. ajurauna*, *A. marmorata*, *A. nana*, *A. engelsi*, *A. lutzi*, *A. heyeri*, *A. andreae* e *A. simonstuarti* (extremidades distais dos artelhos II, III e IV expandidos nestas espécies). Adicionalmente, *A. bokermanni* se distingue de *A. diptyx*, *A. saci* e *A. thomei* por possuir girino endotrófico (girino exotrófico nestas espécies).

Adenomera bokermanni se distingue de *A. ajurauna*, *A. araucaria*, *A. engelsi*, *A. nana* e de *A. cotuba* por apresentar machos de maior tamanho corporal (22,1 – 23,6 mm em *A. bokermanni*, 15,9 – 20,0 mm em *A. ajurauna*, 17,8 mm em *A. araucaria*, 19,4 – 21,7 mm em *A. engelsi*, 17,3 – 18,7 mm em *A. nana* e 18,6 – 20,5 mm em *A. cotuba*) e de *A. lutzi* e *A. simonstuarti* por apresentar machos de menor tamanho corporal (22,1 – 23,6 em *A. bokermanni*, 25,7 – 33,5 em *A. lutzi* e 25,9 – 26,2 em *A. simonstuarti*).

Adenomera bokermanni se distingue de *A. lutzi* por não apresentar manchas de coloração preta num fundo amarelo, laranja ou vermelho na região posterior da coxa (presente em *A. lutzi*) e por não apresentar tubérculos no antebraço (presente em *A. lutzi*; Kok *et al.*, 2007); de *A. hylaedactyla* por não apresentar faixas glandulares dorsais (presente em *A. hylaedactyla*), de *A. andreae* não apresentar modulação de amplitude na nota (presente em *A. andreae*); de *A. simonstuarti* pela ausência de uma faixa lateral preta no antebraço (presente em *A. simonstuarti*); de *A. martinezi* e *A. saci* pela ausência de 4 a 6 fileiras de longitudinais de marcas circulares pretas dispostas simetricamente no dorso (presente em *A. martinezi* e *A. saci*); e de *A. nana* e *A. araucaria* por apresentar manchas marrom escuros na lateral do corpo (ausente ou pequenos pontos marrons escuros em *A. nana* e *A. araucaria*).

Adenomera bokermanni se distingue de *A. ajurauna* pelo canto de anúncio mais curto (0,06 – 0,13 segundos em *A. bokermanni* e 0,13 – 0,32 segundos em *A. ajurauna*); de *A. ajurauna*, *A. araucaria*, *A. engelsi*, *A. nana*, *A. marmorata* e *A. thomei*, por apresentar

menores valores de frequência dominante (2756 – 3617 Hz em *A. bokermanni*, e 4134 – 4996 Hz em *A. ajurauna*, 4478 – 5340 Hz em *A. araucaria*, 3617 – 4306 Hz em *A. engelsi*, 4651 – 5512 Hz em *A. nana*, 3790 – 5168 Hz em *A. marmorata* e 3445 – 5562 Hz em *A. thomei*). *Adenomera bokermanni*, juntamente com *A. engelsi*, *A. nana*, *A. martinezi* e *A. saci* são as únicas espécies do gênero que não apresentam modulação de frequência no canto de anúncio.

Padrão de coloração – Pernas com faixas marrom escuro transversais, interior da coxa com manchas irregulares marrom escuro sobre fundo creme. Ventre predominantemente creme, região gular com melanóforos mais concentrados na região lateral do saco vocal, região abdominal com manchas marrom escuro concentradas lateralmente e região ventral das coxas com manchas marrom escuro esparsas. A lateral do corpo apresenta manchas marrom escuros dispersas. O dorso do corpo apresenta manchas marmoreadas dispersas irregularmente, não formando um padrão claro. Duas listras dorsolaterais marrom escuros e/ou duas faixas dorsolaterais mais externas de cor creme se estendendo da região posterior do olho até a região inguinal podem estar presentes em alguns indivíduos. Da região posterior do olho parte uma faixa marrom escuro que contorna o tímpano e se estende até a junção do braço com o tronco. Antebraço apresenta faixas transversais ou manchas irregulares marrom escuros e a mão apresenta coloração dorsal marmoreada, sem padrão evidente. Em espécimes preservados em álcool 70%, a coloração geral cinza tende a ficar amarelada com o tempo, evidenciando as manchas dorsais e faixas dorsolaterais marrom escuro.

Variação morfológica – A mancha interorbital em forma de triângulo pode apresentar em seu interior uma ou duas manchas pequenas mais claras (lembrando o padrão em máscara diagnóstico de *A. thomei*) ou ser uniformemente marrom escuro bem marcado

ou não (Figura 30). Dentro de uma mesma população, podemos encontrar indivíduos com o formato do focinho subovóide ou arredondado e com a região loreal, vertical ou oblíqua.

Girino – A morfologia do girino descrito por Heyer (1973) se encaixa na descrição de girino de *A. thomei*, além de ser proveniente de uma localidade dentro da área de distribuição desta última espécie (Campos do Jordão - SP, Figura 37). A forma larval de *A. bokermanni*, proveniente da localidade tipo da espécie (Paranaguá - PR) é descrita a seguir e a morfometria é apresentada na Tabela 3. Todos os girinos analisados de *A. bokermanni* se encontram nos estágios 39 seguindo a tabela de Gosner (1960). Devido ao avançado estágio em que os girinos foram encontrados no ninho de espuma (39), à quantidade de vitelo no intestino dos espécimes, à ausência de espiráculo e à estrutura simplificada do disco oral assumimos que o girino de *A. bokermanni* é endotrófico.

Corpo levemente deprimido ($AC/LC = 0,88\text{--}0,98\text{mm}$; Fig. 37A e 37B); medindo aproximadamente um terço do tamanho total do corpo ($CC/CT = 0,31\text{--}0,35\text{m}$); elíptico em vista dorsal. Em vista lateral, corpo inclinado na região da gula e ligeiramente convexo na região do abdômen. Focinho arredondado em vista dorsal ($LCN/LCO = 0,38\text{--}0,49\text{mm}$) e truncado em vista lateral. Narinas orientadas anteriormente, elípticas (arredondada em um indivíduo) e sem cromatóforos no entorno; localizadas lateralmente ($DIN/LCN = 0,87\text{--}0,98\text{mm}$). Olhos grandes ($DO/LCO = 0,35\text{--}0,43\text{mm}$), localizados dorsolateralmente ($DOI/LCO = 0,80\text{--}0,91\text{mm}$), orientados lateralmente. Linha lateral não visível. Tubo cloacal pequeno, em formato de saco, podendo ter uma pequena abertura ou ser completamente fechado, posicionado medialmente, livre ou parcialmente fusionado com a origem da nadadeira ventral. Silhuetas dos membros anteriores podem ser observadas através da pele transparente do ventre dos espécimes (Fig. 37C). Intestino com bastante vitelo. Cauda longa

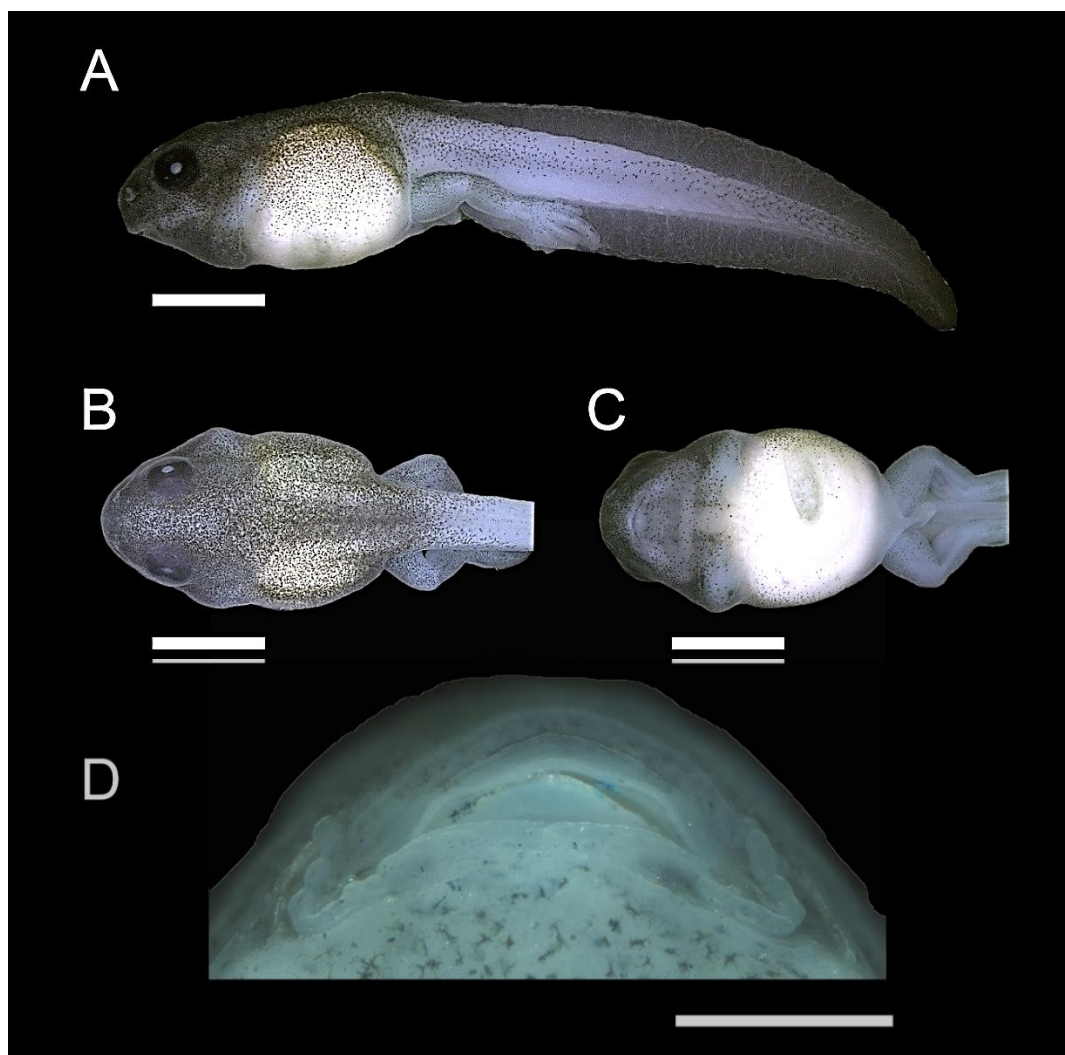


Figura 37. Girino de *Adenomera bokermanni* (estágio 39), coletado no município de Paranaguá – PR. A coloração azulada deve-se ao uso de azul de metileno para melhor visualização das estruturas. **A** – Vista lateral (barra = 2 mm); **B** – vista dorsal (barra = 2mm); **C** – vista ventral (barra = 2mm); **D** – detalhe do aparato bucal (barra = 0,5 mm).

(CC/CCa = 0,63–0,68mm), mais baixa que o corpo (AMC/AC = 0,77–0,93mm), afunilando mais bruscamente no último quarto; musculatura da cauda bem desenvolvida (AMuC/AMC = 0,49–0,63mm), alcançando praticamente o final da parte posterior da cauda, que é arredondada. Nadadeira dorsal com a margem livre convexa; originando-se na junção do

corpo com a cauda. Nadadeira ventral com a margem livre convexa na primeira metade e côncava na segunda; origem na junção do corpo com a cauda, oculta pelo tubo cloacal.

Disco oral (Fig. 37D) posicionado ventralmente e direcionado anteriormente; de tamanho médio ($LDO/LC = 0,31-0,36\text{mm}$); sem emarginações. O disco possui uma única fileira de papilas marginais no seu entorno com uma grande interrupção anterior e outra posterior. Não há papilas submarginais ou fileiras de dentículos. Bico córneo esbranquiçado, com pouquíssima queratinização; não serrilhado. Corpo com a metade anterior do dorso e lateral creme, metade posterior amarelada; acúmulo de melanóforos marrom escuros por todo o dorso; na lateral os acúmulos são mais densos na metade superior. Ventre translúcido, com acúmulos de melanóforos marrom escuros esparsos; região do intestino amarelada e sem melanóforos. Cauda com nadadeiras translúcidas, um indivíduo apresenta musculatura creme com melanóforos marrom escuros esparsos.

A larva de *Adenomera bokermanni* se diferencia das larvas exotróficas de outras espécies do gênero (*A. diptyx* e *A. thomei*) principalmente pela ausência de espiráculo e de dentículos no disco oral (presentes nas espécies exotróficas; de la Riva, 1995; Almeida e Angulo, 2006). Dentre as espécies endotróficas do gênero, o girino de *A. bokermanni* se diferencia do girino de *A. andreae*, de *A. hylaedactyla* e de *A. aff. hylaedactyla* pelo maior tamanho do corpo com relação à cauda ($CC/CT = 0,46-0,55$ em *A. bokermanni*; $0,36, 0,32-0,42$ e $0,35-0,37$ em *A. andreae*, *A. hylaedactyla* e *A. aff. hylaedactyla*, respectivamente; Heyer e Silverstone, 1969; Hero, 1990; Kokubum e Giaretta; 2005). O girino de *A. bokermanni* se diferencia do girino de *A. aff. hylaedactyla* pelo maior tamanho total ($15,2-17,3$ mm em *A. bokermanni* e $11,8-13,3$ mm em *A. aff. hylaedactyla*) e pelo formato do corpo em vista dorsal (elíptico em *A. bokermanni* e oval em *A. aff. hylaedactyla*).

Tabela 3. Morfometria de 12 girinos de *Adenomera bokermanni* coletados no município de Paranaguá – PR (UFMG-g 1509). As medidas são dadas em milímetros (mm).

Caráter	Mínimo – Máximo	Média	Desvio padrão
Comprimento total (CT)	15,19 – 17,26	16,23	0,69
Comprimento do corpo (CC)	5,14 – 5,78	5,42	0,19
Comprimento da cauda (CCa)	10,06 – 11,71	10,88	0,58
Altura máxima da cauda (AMC)	2,20 – 2,77	2,59	0,16
Altura do músculo da cauda (AMuC)	1,29 – 1,63	1,47	0,10
Largura do músculo da cauda (LMC)	1,16 – 1,45	1,32	0,08
Altura do corpo (AC)	2,80 – 3,24	2,99	0,13
Largura do corpo (LC)	3,07 – 3,41	3,26	0,10
Largura do corpo na altura das narinas (LCN)	0,82 – 1,07	0,98	0,07
Largura do corpo na altura dos olhos (LCO)	2,13 – 2,46	2,29	0,10
Distância internasal (DIN)	0,8 – 1,00	0,90	0,06
Distância interorbital (DIO)	1,91 – 2,18	2,01	0,08
Distância focinho-narina (DFN)	0,27 – 0,46	0,37	0,05
Distância focinho-olhos (DFO)	0,82 – 1,07	0,96	0,07
Distância olho-narina (DON)	0,41 – 0,54	0,48	0,04
Diâmetro da narina (DN)	0,15 – 0,22	0,19	0,02
Largura do disco oral (LDO)	1,04 – 1,20	1,10	0,04
Diâmetro do olho (DO)	0,80 – 0,96	0,87	0,05

Vocalização – Foram analisados 15 indivíduos de três localidades (Paranaguá – PR, Itapoá – PR e Guaruva – PR), totalizando 358 cantos. O canto de anúncio de *A. bokermanni* é composto por uma única nota não pulsionada. Possui canto curto (0,06 – 0,13 segundos) e frequência dominante no segundo harmônico (2756 – 3617 Hz). As populações com canto de anúncio com os maiores valores de frequência dominante são da localidade tipo da espécie, Paranaguá – PR (Figura 29). O ritmo de emissão de canto é de 0,60 – 1,14 cantos por segundos. O canto de anúncio de *A. bokermanni* não apresenta modulação de frequência.

História Natural – *Adenomera bokermanni* ocorre em bordas de mata. O macho vocaliza no folhiço exposto ou não, nas proximidades da toca construída para oviposição. A

atividade de vocalização pode ocorrer durante todo o dia em épocas chuvosas, ou a partir do entardecer até as primeiras horas da noite.

A câmara subterrânea com o ninho de espuma com 12 indivíduos foi encontrada no chão de uma área de mata, embaixo da serapilheira. A estrutura da câmara era praticamente esférica, com uma abertura circular de aproximadamente 20 mm de diâmetro e estava completamente coberta por folhas no chão. Havia um macho (não coletado) vocalizando bem próximo à câmara.

Distribuição geográfica – A distribuição de *A. bokermanni*, conforme apresentada por Heyer (1973) apresenta grande sobreposição com a de *A. thomei* (Fouquet *et al.*, 2014). *Adenomera bokermanni* possui distribuição muito menor do que previamente estipulado, sendo restrita a uma área costeira do norte do estado de Santa Catarina até o estado do Paraná (Figura 4).

Comentários – *Adenomera bokermanni* ocorre em simpatria com *A. nana*, mas não em sintopia. Enquanto *A. bokermanni* ocupa áreas de borda de mata, *A. nana* está associada ao interior na mata.

Adenomera sp. n. “sambaqui”

(Figura 38)

Adenomera bokermanni – Heyer, 1973 (DZ 508, DZ 9638)

Adenomera sp. O – Fouquet, Cassini, Haddad, Pech, Rodrigues, 2014

Diagnose – Espécie caracterizada por: 1) extremidades distais dos artelhos não expandidas; 2) lateral do corpo com manchas marrom escuro; 3) canto de anúncio não pulsionado; 4) canto de anúncio sem modulação de frequência; 5) duração do canto de anúncio 0,06 – 0,13 segundos; 6) frequência dominante do canto de anúncio 2756 – 3618 Hz; 7) três transformação nas posições 358, 475 e 499 do fragmento mitocondrial CO1 (T →C, T →C, A →G respectivamente; Apêndice 3); 8) sete transformações nas posições 277, 340, 361, 388, 475, 487, 589 do fragmento mitocondrial CytB (T →C, A →G, T →C, A →C, T →C, C →T e C → T respectivamente; Apêndice 3)

Descrição do macho baseada no espécime CFBH 22324 (Figura 38) – Cabeça mais longa que larga, focinho arredondado em vista dorsal, acuminado em vista lateral; narinas redondas, não protuberantes, localizadas lateralmente, mais próximas à ponta do focinho do que do olho; *canthus rostralis* indistinto; região loreal oblíqua, côncava; anel timpânico distinto; diâmetro do tímpano cerca de 1/3 do diâmetro do olho; prega supratimpânica desenvolvida, partindo da porção posterior do olho até a inserção do braço; glândulas parotóides pouco desenvolvidas; glândula pós-comissural presente, desenvolvida. Dorso marmoreado predominantemente marrom escuro; presença de uma faixa dorsolateral evidente, creme, glandular, que se estende desde a região anterior da pálpebra até à porção anterior da região inguinal. Saco vocal subgular, não expandido lateralmente, de coloração

predominantemente creme e cinza escuro lateralmente. Coanas grandes, ovais, muito separadas entre si; duas fileiras de dentes vomerianos localizados posteriormente e lateralmente às coanas. Língua oval, bem desenvolvidos, longa, com a extremidade posterior livre; dentes maxilares e pré-maxilares não visíveis. Região abdominal homogeneamente creme. Glândula ectopeitoral entumecida. Braços curtos, finos; dedos finos e curtos, sem franjas nem superfície serrada na parte interna dos dedos III e IV; comprimento dos dedos $II > III = V < IV$; pontas dos dedos não expandidas; calo nupcial ausente; tubérculos subarticulares desenvolvidos, únicos, redondos; tubérculo metacarpal externo redondo, cobrindo metade da região carpal; tubérculo metacarpal interno redondo, do mesmo tamanho que o tubérculo metacarpal externo; tubérculos supranumerários na região palmar presentes, em pouca quantidade e muito desenvolvidos. Pernas curtas com faixas transversais marrom escuro dorsais e manchas marrom escuro em fundo creme ventralmente. Tíbia pouco maior que a coxa; tubérculos na tíbia presentes em pouca quantidade. Extremidades distais dos artelhos não expandidas; artelhos sem franjas ou fímbrias; tamanho dos artelhos $I < II < III = V < IV$; prega tarsal ausente; tubérculos subarticulares presentes, pouco desenvolvidos, redondos; tubérculo metatarsal externo desenvolvido, redondo; tubérculo metatarsal interno menor, cônico; tubérculo tarsal ausente; tubérculos supranumerários na região plantar presentes.

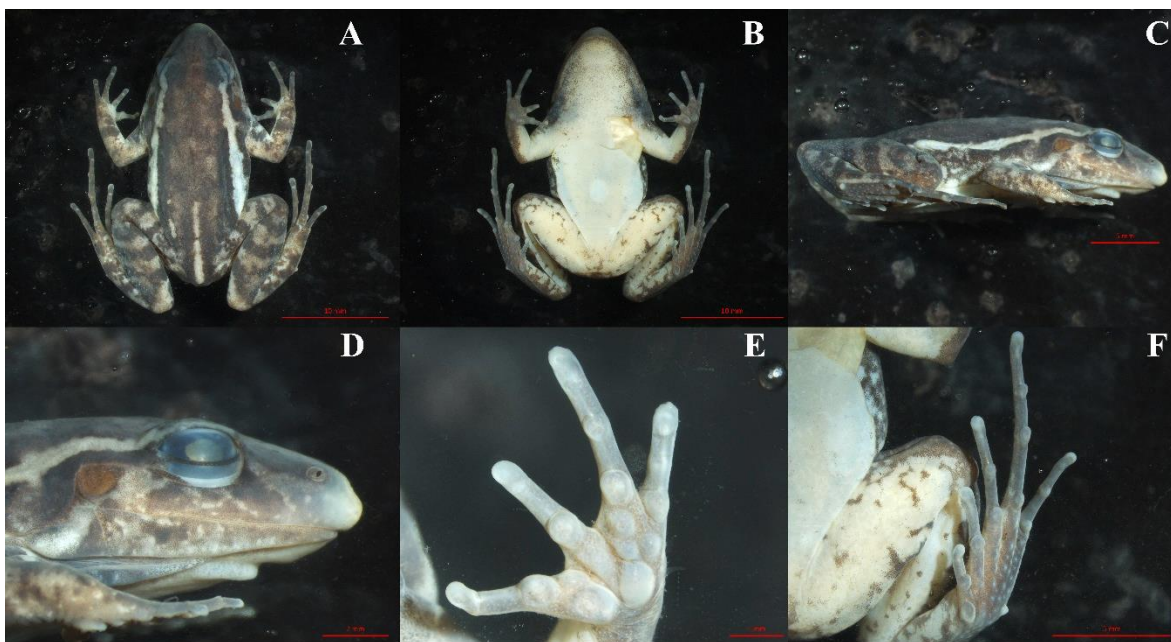


Figura 38. *Adenomera* sp. n. “sambaqui” (CFBH 22324), macho, do município de Ilha Comprida, estado de São Paulo, Brasil. **A** – Vista dorsal; **B** – vista ventral; **C** – vista lateral; **D** – vista lateral da cabeça; **E** – vista ventral da mão; **F** – vista ventral do pé.

Comparação com outras espécies (Quadro 1) – Por apresentar canto de anúncio não pulsionado, *Adenomera* sp. n. “sambaqui” se distingue de *A. araucaria*, *A. coca*, *A. cotuba*, *A. diptyx*, *A. heyeri*, *A. hylaedactyla*, *A. juikitam*, *A. martinezi*, *A. simonstuarti* e *A. thomei* (pulsinado nestas espécies); por apresentar a região distal dos artelhos não expandida *A. sp. n. “sambaqui”* se distingue de *A. ajurauna*, *A. marmorata*, *A. nana*, *A. engelsi*, *A. lutzi*, *A. heyeri*, *A. andreae* e *A. simonstuarti* (extremidade distais dos artelhos II, III e IV expandidas nestas espécies).

Adenomera sp. n. “sambaqui” se distingue de *A. ajurauna*, *A. araucaria*, *A. engelsi*, *A. nana* e de *A. cotuba* por apresentar machos de maior tamanho corporal (19,4 mm – 26,5 mm em *A. sp. n. “sambaqui”*, 15,9 mm – 20,0 mm em *A. ajurauna*, 17,8 mm em *A. araucaria*,

19,4 mm – 21,7 mm em *A. engelsi*, 17,3 mm – 18,7 mm em *A. nana* e 18,6 mm – 20,5 mm em *A. cotuba*) e de *A. lutzi* e *A. simonstuarti* por apresentar machos de menor tamanho corporal (19,4 mm – 26,5 mm em *A. sp. n. “sambaqui”*, 25,7 mm – 33,5 mm em *A. lutzi* e 25,9 mm – 26,2 mm em *A. simonstuarti*); de *A. lutzi* distingue-se por não apresentar coloração de manchas pretas num fundo amarelo, laranja ou vermelho na região posterior da coxa (presentes em *A. lutzi*) e por não apresentar tubérculos no antebraço (presente em *A. lutzi*); de *A. andreae* por não apresentar faixas glandulares dorsais (presentes em *A. andreae*); de *A. simonstuarti* distingue-se pela ausência de uma faixa lateral preta no antebraço (presente em *A. simonstuarti*); de *A. martinezi* e *A. saci* distingue-se pela ausência de 4 a 6 fileiras de longitudinais de marcas circulares pretas dispostas simetricamente no dorso (presentes em *A. martinezi* e *A. saci*) e de *A. nana* e *A. araucaria* distingue-se por apresentar manchas marrom escuros na lateral do corpo (ausentes ou pequenos pontos marrons escuros em *A. nana* e *A. araucaria*).

O canto de anúncio de *A. sp. n. “sambaqui”* se diferencia do canto de anúncio de *A. martinezi*, *A. saci* e *A. simostuarti* por apresentar a frequência dominante no segundo harmônico (no primeiro harmônico em *A. martinezi*, *A. saci* e *A. simostuarti*); de *A. ajurauna*, *A. araucaria*, *A. coca*, *A. engelsi*, *A. heyeri*, *A. juikitam*, *A. nana*, *A. marmorata* e *A. thomei* distingue-se por apresentar menores valores de frequência dominante (2928 – 3445 Hz em *A. sp. n. “sambaqui”*, 4134 – 4996 Hz em *A. ajurauna*, 4478 – 5340 Hz em *A. araucaria*, 3449 – 3748 Hz em *A. coca*, 3617 – 4306 Hz em *A. engelsi*, 3570 – 3840 Hz em *A. heyeri*, 3780 – 4180 Hz em *A. juikitam*, 4651 – 5512 Hz em *A. nana*, 3445 – 5168 Hz em *A. marmorata* e 3445 – 5562 Hz em *A. thomei*). *Adenomera sp. n. “sambaqui”*, juntamente com *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. nana*, *A. martinezi* e *A. saci* são as únicas espécies do gênero que não apresentam modulação de frequência no canto de anúncio.

Adenomera sp. n. “sambaqui” é acústica e morfologicamente indistinta de *A. bokermanni*. No entanto, evidências moleculares mostram que ambas as espécies formam grupos monofiléticos e de histórias evolutivas independentes (Fouquet *et al.*, 2014; presente estudo).

Padrão de coloração – Região gular com melanóforos espalhados uniformemente, região abdominal uniformemente creme ou com manchas marrom escuro concentradas lateralmente. Região ventral das coxas com manchas marrom escuro esparsas. A lateral do corpo apresenta manchas marrom escuros irregulares. O dorso do corpo apresenta manchas marmoreadas dispersas irregularmente, não formando um padrão claro. Duas listras dorsolaterais marrom escuros e/ou duas faixas dorsolaterais mais externas de cor creme, que se estendem da região anterior da pálpebra até a região inguinal, podem estar presentes em alguns indivíduos. Da região posterior do olho parte uma faixa marrom escuro que contorna o tímpano e se estende até a junção do braço com o tronco. Antebraço apresenta faixas transversais ou manchas irregulares marrom escuras e a mão apresenta coloração dorsal marmoreada, sem padrão evidente.

Variação morfológica – A mancha interorbital pode estar presente ou não; quando presente forma um triângulo invertido ou uma barra e pode apresentar em seu interior uma ou duas manchas pequenas mais claras (lembrando o padrão em máscara diagnóstico de *A. thomei*) ou ser uniformemente marrom escuro bem marcado ou não (Figura 30). Dentro de uma mesma população, podemos encontrar indivíduos com padrão de coloração dorsal marmoreado ou com listras longitudinais; com o formato do focinho subovóide, subelíptico ou arredondado; com a região loreal, vertical ou oblíqua.

Girino – Desconhecido.

Vocalização – Foram analisados sete indivíduos de duas localidades (Iguape – SP e Miracatu – SP), totalizando 140 cantos. O canto de anúncio de *A. sp. n. “sambaqui”* é composto por uma única nota, não pulsionada. Possui canto curto (0,05 – 0,20 segundos) e frequência dominante no segundo harmônico (2928 – 3445 Hz).

História Natural – *Adenomera sp. n. “sambaqui”* ocorre em áreas abertas ou antropizadas (*e.g.*, plantações, currais). O macho vocaliza menos exposto à luz do dia e mais exposto à noite. A atividade de vocalização foi observada durante o entardecer até as primeiras horas da noite.

Distribuição geográfica – A distribuição conhecida de *A. sp. n. “sambaqui”* é restrita ao sul do estado de São Paulo, sendo conhecida para os municípios de Iguape, Miracatu, Itanhanhém, Ilhas do Cardoso, de Cananéia e Comprida.

Comentários – O parátipo de *A. bokermanni* MZUSP 508 (com acrônimo DV em Heyer, 1973), proveniente do município de Iguape, apresenta tamanho corporal congruente com espécimes analisados de *A. bokermanni* e *A. sp. n. “sambaqui”* e perdeu completamente todo o seu padrão de coloração (Figura 35). *Adenomera bokermanni*, *A. engelsi*, *A. nana*, *A. sp. n.* são distinguíveis entre si e é improvável que representem uma única espécie de grande variação morfológica e acústica. Mesmo não apresentando nenhuma diferença morfológica e acústica entre si e com distribuições geográficas próximas, *A. bokermanni* e *A. sp. n. “sambaqui”* não foram recuperados como grupos irmãos na nossa análise e, portanto, representam, cada um, o menor indivíduo histórico o qual apresenta padrões de parentesco de ancestralidade e descendentes (Kluge, 1990; Grant, 2002).

Uma das possíveis barreiras geográficas entre *A. bokermanni* e *A. sp. n. “sambaqui”* é o lineamento de Guapiara, que é conhecido por coincidir com quebras filogenéticas em

alguns grupos de vertebrados (Thomé *et al.*, 2010). O lineamento de Guapiara apresenta 25 km de largura e 673,5 km de comprimento. Dentre suas principais expressões geomorfológicas incluem anomalias no curso do rio Ribeira de Iguape e seus afluentes (Saadi *et al.*, 2002). Seu maior período de atividade foi durante o Mesozóico (Melo *et al.*, 1990) e sua movimentação mais recente foi durante o Pleistoceno (<1.6 Ma) e deve ter continuado até o Holoceno ($< 0,01$ Ma; Saadi *et al.*, 2002). No entanto, a datação obtida para a cladogênese dos ramos que dividem *A. sp. n.* “sambaqui” (como *A. sp. O*) e as demais espécies do clado Marmorata Sul é mais antiga do que aquelas movimentações, entre o Mioceno e Plioceno (aproximadamente entre 7 e 2 milhões de anos; Fouquet *et al.*, 2014).

Adenomera sp. n. “catarinense”

(Figura 39)

Adenomera cf. *araucaria* – Kwet 2007

Adenomera araucaria – Conte, 2010

Adenomera sp. R – Fouquet, Cassini, Haddad, Pech, Rodrigues, 2014

Diagnose – Espécie caracterizada por: 1) canto de anúncio com pulsos apenas na sua porção final; 2) extremidade distal dos artelhos expandidos; 3) lateral do corpo com manchas marrom escuro; 4) canto de anúncio com modulação de frequência do canto de anúncio ascendente; 5) duração do canto de anúncio 0,06 – 0,12 segundos; 6) frequência dominante do canto de anúncio 4823 – 5685 Hz.

Descrição do macho baseada no espécime UFMG 7080 (Figura 39) – Cabeça mais longa que larga, focinho arredondado em vista dorsal, acuminado em vista lateral; narinas redondas, não protuberantes, localizadas lateralmente, mais próximas à ponta do focinho do que do olho; *canthus rostralis* indistinto; região loreal oblíqua, reta; anel timpânico distinto; diâmetro do tímpano cerca de 2/3 do diâmetro do olho; prega supratimpânica desenvolvida, partindo da porção posterior do olho até a inserção do braço; glândulas parotóides pouco desenvolvidas; glândula pós-comissural presente bem desenvolvida. Dorso marmoreado de manchas marrom sobre fundo cinza; faixa dorsolateral ausente. Saco vocal subgular, expandido lateralmente, com melanóforos espalhados uniformemente sobre fundo creme. Coanas grandes, ovais, muito separadas entre si; duas fileiras de dentes vomerianos localizados posterior e lateralmente às coanas. Língua oval, bem desenvolvida, longa, com

extremidade posterior livre. Dentes maxilares e pré-maxilares não visíveis. Região abdominal homogeneamente creme. Glândula ectopeitoral pouco entumecida. Braços curtos, finos; dedos finos e curtos, sem franjas nem superfície serrada na parte interna dos dedos III e IV; comprimento dos dedos $II = III = V < IV$; pontas dos dedos não expandidas; calo nupcial ausente; tubérculos subarticulares desenvolvidos, únicos, redondos e elípticos; tubérculo metacarpal externo redondo, cobrindo metade da região carpal; tubérculo metacarpal interno, elíptico, menor do que o tubérculo metacarpal externo; tubérculos supranumerários da região palmar presentes, em pouca quantidade, muito desenvolvidos. Pernas curtas, dorsalmente com faixas transversais marrons e uniformemente creme ventralmente. Tíbia pouco maior que a coxa; tubérculos na tíbia presentes em pouca quantidade. Extremidades distais dos artelhos II, III, IV e V expandidas; artelhos sem franjas ou fímbrias; tamanho dos artelhos $I < II < III = V < IV$; prega tarsal ausente; tubérculos subarticulares presentes, pouco desenvolvidos, redondos; tubérculo metatarsal externo, desenvolvido, elíptico; tubérculo metatarsal interno menor, cônico; tubérculo tarsal ausente; tubérculos supranumerários na região plantar presentes.

Comparação com outras espécies (Quadro 1) – Por apresentar canto de anúncio com pulsos na porção final do canto, *Adenomera* sp. n. “catarinense” se distingue de todas as demais espécies de *Adenomera* (canto não pulsionado ou com pulsos uniformemente distribuídos no canto nas demais espécies) e por apresentar a região distal dos artelhos expandida. *A. sp. n. “catarinense”* se distingue de *A. sp. n. “sambaqui”*, *A. araucaria*, *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. nana*, *A. thomei*, *A. cotuba*, *A. juikitam*, *A. hylaedactyla*, *A. martinezi* e *A. saci* (extremidade distal dos artelhos II, III e IV não expandidas nestas espécies). *Adenomera sp. n. “catarinense”* se distingue de *A. sp. n. “sambaqui”*, *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. thomei*, *A. lutzi* e de *A. simonstuarti* por apresentar machos com

menor tamanho corporal (18,68 – 19,03 mm em *A. sp. n. “catarinense”*, 19,4 – 26,5 em *A. sp. n. “sambaqui”*, 22,1 – 23,6 mm em *A. bokermanni*, 19,4 – 21,7 em *A. engelsi*, 20,6 – 24,6 mm em *A. thomei*, 25,7 – 33,5 em *A. lutzi* e 25,9 – 26,2 em *A. simonstuarti*).

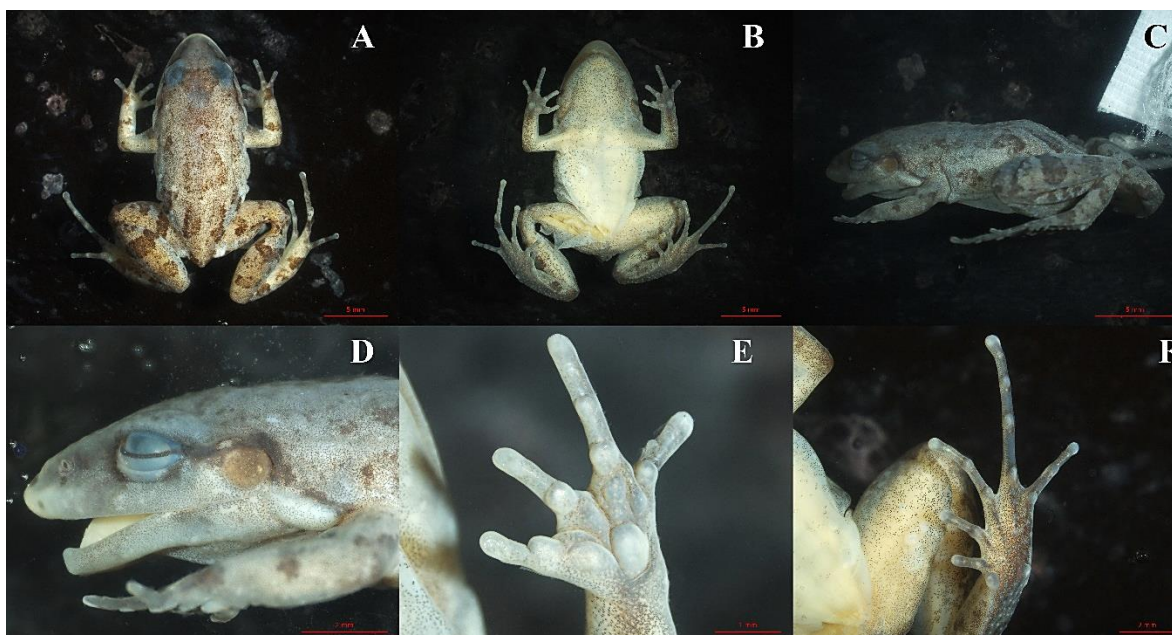


Figura 39. *Adenomera sp. n. “catarinense”* (UFMG 7080), macho, do município de Florianópolis, estado de Santa Catarina, Brasil. **A** – vista dorsal; **B** – vista ventral; **C** – vista lateral; **D** – vista lateral da cabeça; **E** – vista ventral da mão; **F** – vista ventral do pé.

Adenomera sp. n. “catarinense” se distingue de *A. lutzi* por não apresentar coloração de manchas pretas num fundo amarelo, laranja ou vermelho na região posterior da coxa (presente em *A. lutzi*) e por não apresentar tubérculos no antebraço (presentes em *A. lutzi*); de *A. hylaedactyla* por não apresentar faixas glandulares dorsais (presentes em *A. hylaedactyla*); de *A. simonstuarti* distingue-se pela ausência de uma faixa lateral preta no antebraço (presente em *A. simonstuarti*); de *A. martinezi* e *A. saci* distingue-se pela ausência

de 4 a 6 fileiras de longitudinais de marcas circulares pretas, dispostas simetricamente no dorso (presentes em *A. martinezi* e *A. saci*) e de *A. araucaria* e *A. sp. n. "canto curto"* distingue-se por apresentar manchas marrom escuras na lateral do corpo (ausentes em *A. araucaria* e *A. sp. n. "canto curto"*).

Além da presença de pulsos não uniformemente distribuídos na nota, o canto de anúncio de *A. sp. n. "catarinense"* distingue-se do de *A. ajurauna*, *A. heyeri* e *A. juikitam* por ser mais curto (0,05 – 0,12 segundos em *A. sp. n. "catarinense"*, 0,13 – 0,32 segundos em *A. ajurauna*, 0,14 – 0,19 segundos em *A. heyeri*, 0,15 – 0,20 segundos em *A. juikitam*); de *A. martinezi*, *A. saci* e *A. simonstuarti* distingue-se por apresentar a frequência dominante no segundo harmônico (frequência dominante igual à frequência fundamental nestas espécies); de *A. sp. n. "sambaqui"*, *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. coca*, *A. cotuba*, *A. diptyx*, *A. juikitam*, *A. heyeri*, *A. hylaedactyla* e *A. lutzi* distingue-se por apresentar maior valor de frequência dominante (4823 – 5685 Hz em *A. sp. n. "catarinense"*, 2928 – 3445 Hz em *A. sp. n. "sambaqui"*, 2756 – 3617 Hz em *A. bokermanni*, 3617 – 4306 Hz em *A. engelsi*, 3449 – 3748 Hz em *A. coca*, 3500 – 3800 Hz em *A. cotuba*, 4200 – 4500 Hz em *A. diptyx*, 3780 – 4180 Hz em *A. juikitam*, 3570 – 3840 Hz em *A. heyeri*, 3400 – 4358 Hz em *A. hylaedactyla*; e 3273 – 3620 Hz em *A. lutzi*); e de *A. bokermanni*, *A. sp. n. "sambaqui"*, *A. engelsi*, *A. nana*, *A. martinezi* e *A. saci* distingue-se por apresentar canto de anúncio com modulação de frequência ascendente (modulação de frequência ausente nestas espécies).

Padrão de coloração – Pernas com faixas marrom escuro transversais; interior da coxa com pequenos pontos e/ou manchas marrom escuro sob fundo creme. Ventre predominantemente creme, região gular com pontos pretos espalhados uniformemente, região abdominal com pequenos pontos marrom escuro concentrados lateralmente e região

ventral das coxas com pequenos pontos esparsos marrom escuro. A lateral do corpo apresenta pequenos pontos e poucas manchas difusas marrom escuro. O dorso do corpo apresenta manchas marmoreadas dispersas irregularmente, não formando um padrão nítido. Da região posterior do olho parte uma faixa marrom escuro que contorna o tímpano e se estende até a junção do braço com o tronco. Antebraço apresenta faixas transversais ou manchas irregulares marrom escuro e a mão apresenta coloração dorsal marmoreada, sem padrão evidente.

Variação morfológica – Dentro de uma mesma população, podemos encontrar indivíduos com o formato do focinho subovóide ou arredondado em vista dorsal.

Girino – Desconhecido.

Vocalização – Foram analisados seis indivíduos de uma localidade (Florianópolis – SC), totalizando 111 cantos. O canto de anúncio de *A. sp. n.* “catarinense” é composto por uma única nota não pulsionada na primeira metade e pulsionada na metade final. Possui canto curto (0,05 – 0,12 segundos), frequência dominante no segundo harmônico (4823 – 5685 Hz) e modulação de frequência ascendente (Figuras 10 e 22).

História Natural – *Adenomera sp. n.* “catarinense” ocorre em áreas abertas de restinga e bordas de mata. O macho vocaliza exposto ou não. A atividade de vocalização foi observada durante o entardecer até as primeiras horas da noite.

Distribuição geográfica – A distribuição conhecida de *A. sp. n.* “catarinense” é restrita ao leste do estado de Santa Catarina, sendo conhecida para os municípios de Bombinhas, Florianópolis e São Bonifácio (Figura 4).

Comentários – Apesar da pequena amostragem de *A. sp. n. “catarinense”*, suas características bioacústicas (canto com pulsos presentes na porção final do canto) e morfológicas (extremidade dos artelhos expandidos) a distingue prontamente de seu grupo irmão *A. araucaria*, uma vez que essas características não mostraram variação intraespecífica dentro do gênero *Adenomera*. Diferenças entre o canto de anúncio de *A. sp. n. “catarinense”* de Florianópolis e o canto de anúncio de *A. araucaria* já haviam sido reportadas por Kwet (2006; 2007), que atribuiu *A. sp. n. “catarinense”* como *Adenomera cf. araucaria*. Não obstante, Conte et. al. (2010) analisou a bioacústica de espécimes da ilha de Florianópolis – SC e atribuiu a espécie à *A. araucaria*.

Adenomera sp. n. “canto curto”

(Figura 40)

Adenomera sp. S – Fouquet, Cassini, Haddad, Pech, Rodrigues, 2014

Diagnose – Espécie caracterizada por: 1) extremidade distal dos artelhos II, III e IV expandidas; 2) lateral do corpo sem manchas marrom escuro; 3) canto de anúncio não pulsionado; 4) canto de anúncio com modulação de frequência ascendente; 5) duração do canto de anúncio 0,01 – 0,10 segundos; 6) frequência dominante do canto de anúncio 4996 – 6000 Hz.

Descrição do macho baseado no espécime CFBH 35845 (Figura 40) – Cabeça mais longa que larga, focinho subelíptico em vista dorsal, acuminado em vista lateral; narinas redondas, não protuberantes, localizadas lateralmente, mais próximas à ponta do focinho do que do olho; *canthus rostralis* indistinto; região loreal oblíqua, reta; anel timpânico distinto; diâmetro do tímpano cerca de 1/3 do diâmetro do olho; prega supratimpânica desenvolvida, partindo da porção posterior do olho até o canto da boca; glândulas parotóides pouco desenvolvidas; glândula pós-comissural presente bem desenvolvida. Dorso marmoreado de manchas marrons sobre fundo cinza; faixa dorsolateral ausente. Saco vocal subgular, não expandido lateralmente, com melanóforos mais concentrados lateralmente; coloração gular de fundo creme. Coanas grandes, ovais, muito separadas entre si; duas fileiras de dentes vomerianos localizados posteriormente e lateralmente às coanas. Língua oval, bem desenvolvida, longa, com a extremidade posterior livre. Dentes maxilares e pré-maxilares não visíveis. Glândula ectopeitoral entumecida. Região abdominal homogeneamente creme. Braços curtos e finos; dedos finos e curtos, sem franjas nem superfície serrada na parte

interna dos dedos III e IV; comprimento dos dedos $II = III < V < IV$; pontas dos dedos não expandidas; calo nupcial ausente; tubérculos subarticulares desenvolvidos, únicos, elípticos; tubérculo metacarpal externo redondo, cobrindo metade da região carpal; tubérculo metacarpal interno, elíptico, menor do que o tubérculo metacarpal externo; tubérculos supranumerários da região palmar presentes em pouca quantidade e pouco desenvolvidos. Pernas curtas, dorsalmente com faixas transversais marrom e ventralmente com pequenos pontos cinza formando manchas sobre fundo creme. Tíbia do mesmo tamanho que a coxa; tubérculos na tíbia ausentes. Extremidade distal dos artelhos II, III e V expandidas (I e V não expandidas), sem franjas ou fímbrias; tamanho dos artelhos $I < II < III = V < IV$; prega tarsal presente; tubérculos subarticulares presentes, pouco desenvolvidos, redondos; tubérculo metatarsal interno desenvolvido, elíptico; tubérculo metatarsal externo menor, cônico; tubérculo tarsal ausente; tubérculos supranumerários na região plantar presentes.

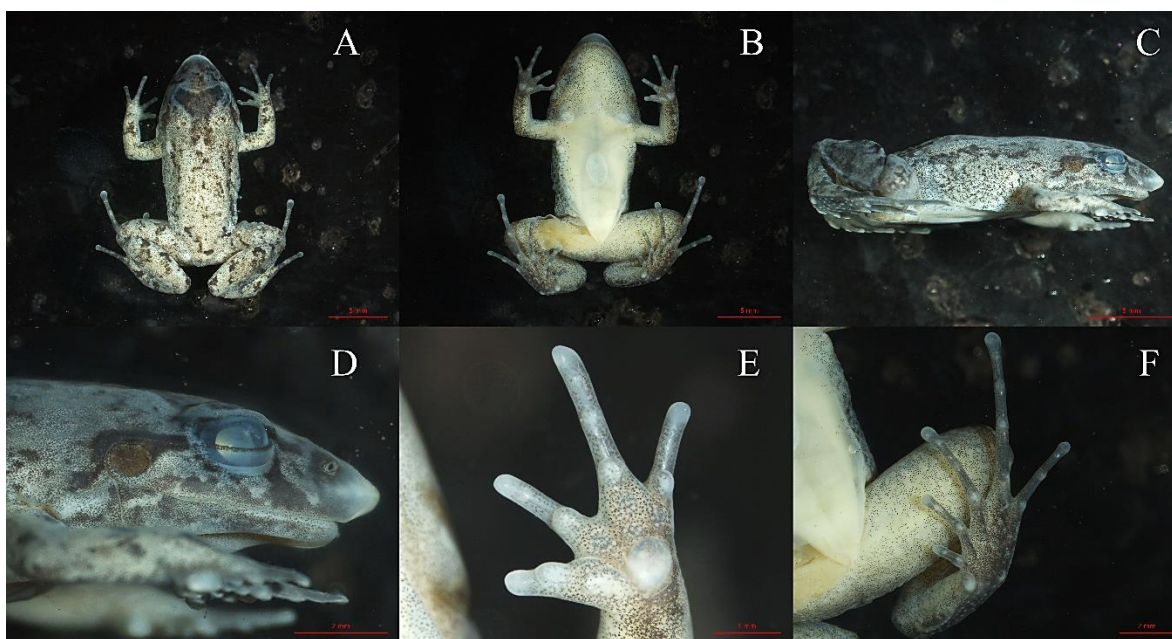


Figura 40. *Adenomera* sp. n. “canto curto” (CFBH 35845), macho, município de Florianópolis, estado de Santa Catarina, Brasil. **A** – Vista dorsal; **B** – vista ventral; **C** – vista lateral; **D** – vista lateral da cabeça; **E** – vista ventral da mão; **F** – vista ventral do pé.

Comparação com outras espécies (Quadro 1) – Por apresentar canto de anúncio não pulsionado, *Adenomera* sp. n. “canto curto” se distingue de *A. sp. n. “sambaqui”*, *A. araucaria*, *A. coca*, *A. cotuba*, *A. diptyx*, *A. heyeri*, *A. hylaedactyla*, *A. juikitam*, *A. martinezi*, *A. simonstuarti* e *A. thomei* (canto de anúncio pulsionado nestas espécies) e por apresentar a região distal dos artelhos II, III e IV expandida *A. sp. n. “canto curto”* se distingue de *A. araucaria*, *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. nana*, *A. thomei*, *A. cotuba*, *A. juikitam*, *A. hylaedactyla*, *A. martinezi* e *A. saci* (extremidade distal dos artelhos não expandidas nestas espécies). *Adenomera* sp. n. “canto curto” se distingue de *A. sp. n. “sambaqui”*, *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. thomei*, *A. lutzi*, *A. andreae* e de *A. simonstuarti* por apresentar machos com menor tamanho corporal (16,4 – 19,38 mm em *A. sp. n. “canto curto”*, 19,4 – 26,5 em *A. sp. n. “sambaqui”*, 22,1 – 23,6 mm em *A. bokermanni*, 19,4 – 21,7 em *A. engelsi*, 20,6 – 24,6 mm em *A. thomei*, 25,7 – 33,5 em *A. lutzi*, 19,83 – 20,90 mm em *A. andreae* e 25,9 – 26,2 em *A. simonstuarti*).

Adenomera sp. n. “canto curto” se distingue de *A. lutzi* por não apresentar coloração de manchas pretas num fundo amarelo, laranja ou vermelho na região posterior da coxa (presentes em *A. lutzi*) e por não apresentar tubérculos no antebraço (presentes em *A. lutzi*); de *A. andreae* por não apresentar faixas glandulares dorsais (presentes em *A. andreae*); de *A. simonstuarti* pela ausência de uma faixa lateral preta no antebraço (presentes em *A. simonstuarti*); de *A. martinezi* e *A. saci* pela ausência de 4 a 6 fileiras de longitudinais de marcas circulares pretas dispostas simetricamente no dorso (presente em *A. martinezi* e *A. saci*), de *A. thomei*, *A. marmorata*, *A. ajurauna*, *A. sp. n. “catarinense”*, *A. araucaria*, *A. engelsi*, *A. nana* e *A. bokermanni* por apresentar a região posterior da coxa com manchas marrom escuro concentradas na região distal da coxa (uniformemente distribuídas nestas

espécies) e de *A. andreae*, *A. engelsi*, *A. marmorata* e *A. sp. n. “catarinense”* por não apresentar manchas marrom escuro, apenas pequenos pontos marrons na lateral do corpo (manchas marrom escuro e pequenos pontos marrons presentes na lateral do corpo nestas espécies).

O canto de anúncio de *A. sp. n. “canto curto”* difere do de *A. ajurauna*, *A. thomei*, *A. coca*, *A. heyeri* e *A. juikitam* por ser mais curto (0,01 – 0,10 segundos em *A. sp. n. “canto curto”*, 0,13 – 0,32 segundos em *A. ajurauna*, 0,11 – 0,33 segundos em *A. thomei*, 0,11 – 0,14 segundos em *A. coca*, 0,14 – 0,19 segundos em *A. heyeri*, 0,15 – 0,20 segundos em *A. juikitam*); de *A. martinezi*, *A. saci* e *A. simonstuarti* por apresentar a frequência dominante no segundo harmônico (frequência dominante igual à frequência fundamental nestas espécies); e de *A. sp. n. “sambaqui”*, *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. coca*, *A. cotuba*, *A. diptyx*, *A. juikitam*, *A. heyeri*, *A. hylaedactyla* e *A. lutzi* por apresentar maior valor de frequência dominante (4996 – 6000 Hz em *A. sp. n. “canto curto”*, 2928 – 3445 Hz em *A. sp. n. “sambaqui”*, 2756 – 3617 Hz em *A. bokermanni*, 3617 – 4306 Hz em *A. engelsi*, 3449 – 3748 Hz em *A. coca*, 3500 – 3800 Hz em *A. cotuba*, 4200 – 4500 Hz em *A. diptyx*, 3780 – 4180 Hz em *A. juikitam*, 3570 – 3840 Hz em *A. heyeri*, 3400 – 4358 Hz em *A. hylaedactyla*; e 3273 – 3620 Hz em *A. lutzi*).

Padrão de coloração – Pernas com faixas marrom escuro transversais, região posterior da coxa com manchas irregulares marrom escuro mais concentradas na porção distal. Ventre creme, região gular com pequenos pontos pretos concentrados lateralmente. A lateral do corpo apresenta pequenas manchas marrom escuro dispersas, não formando manchas maiores. O dorso do corpo apresenta manchas marmoreadas dispersas irregularmente, não formando um padrão nítido. Podem estar presentes duas listras dorsolaterais marrom escuro e/ou duas faixas dorsolaterais mais externas de cor creme se

estendendo da região posterior do olho até a região inguinal. Na região dorsal da cabeça há uma faixa ou um triângulo invertido homogeneamente marrom escuro, estando mais ou menos evidente se o indivíduo apresenta coloração geral do corpo cinza claro ou cinza escuro respectivamente. Da região posterior do olho parte uma faixa marrom escuro que contorna o tímpano e se estende até a junção do braço com o tronco. Antebraço apresenta faixas transversais ou manchas irregulares marrom escuro e a mão apresenta coloração dorsal marmoreada, sem padrão evidente.

Variação morfológica – Fêmeas ligeiramente maiores que os machos (fêmeas com CRC = 18,76 – 21,73 mm, n = 15 indivíduos; machos com CRC = 16,43 – 19,38 mm, 16 indivíduos). Dentro de uma mesma população, podemos encontrar indivíduos com o formato do focinho subovóide ou arredondado em vista dorsal; com a região loreal oblíqua reta ou côncava.

Girino – Desconhecido.

Vocalização – Foram analisados oito indivíduos de três localidades (Guaratuba – PR, Iguape – SP, Miracatu - SP), totalizando 210 cantos. O canto de anúncio de *A. sp. n.* “canto curto” é composto por uma única nota, não pulsionada. Possui canto curto (0,01 – 0,10 segundos), frequência dominante no segundo harmônico (4995 – 6000 Hz). A população de Guaratuba – PR apresentou cantos mais longos (entre 80 e 100 ms) que indivíduos das populações de Iguape – SP e Miracatu – SP (entre 10 e 60 ms conjuntamente). Entretanto, as frequências dominantes dos cantos das três populações não diferem entre si (Figura 14). A modulação de frequência do canto de anúncio é ausente, ou quando presente é ascendente (Figura 13).

História Natural – *Adenomera* sp. n. “canto curto” foi encontrada em áreas abertas (bordas de mata ou em áreas antropizadas), na serrapilheira. O macho vocaliza exposto ou não. A atividade de vocalização foi observada durante o entardecer até as primeiras horas da noite.

Distribuição geográfica – *Adenomera* sp. n. “canto curto” está distribuída no sul do estado de São Paulo, nos municípios de Ribeirão Branco, Miracatu, Iguape e no município de Guaratuba, estado do Paraná (Figura 4).

Comentários – *Adenomera* sp. n. “canto curto” apresenta características acústica (duração do canto mais curto) e morfológicas (lateral do corpo sem manchas maiores marrom) que a distinguem prontamente de seu grupo irmão *A. ajurauna*. Diferenças entre o canto de *A. sp. n. “canto curto”* de Guaratuba, estado do Paraná, e o canto de *A. araucaria*, *A. nana* e *A. engelsi* já haviam sido reportadas por Kwet (2006; 2007) o que levou este autor a identificar esta espécie como *Adenomera* sp. III (Kwet, 2006). Conte *et al.* (2010) analisou a bioacústica de populações próximas de Guaratuba, estado do Paraná (Tijucas do Sul e São José dos Pinhais) e atribuiu-as a *A. nana*. De fato, a morfologia externa e o canto de *A. sp. n. “canto curto”* é semelhante a de *A. nana*. No entanto, *A. sp. n. “canto curto”* se distingue pelo menor comprimento rostro-cloacal em comparação com *A. nana* (Figura 10). Esta característica somada ao fato de que estas espécies não apresentam relacionamento filogenético próximo entre si, pois *A. sp. n. “canto curto”* pertence ao clado *A. marmorata* Norte e *A. nana* pertence ao clado *A. marmorata* Sul (Figura 1), faz com que estas duas espécies sejam reconhecidas como entidades únicas na história evolutiva do gênero *Adenomera*.

DISCUSSÃO

TOPOLOGIA

O relacionamento entre os terminais do outgroup são congruentes com os resultados encontrados em outros trabalhos (Fouquet *et al.*, 2013, 2014), exceto pelo posicionamento filogenético de *Pseudopaludicola falcipes*. Não recuperamos Leiuperinae como um grupo monofilético. No entanto, Faivovich *et al.* (2012) também não recuperaram Leiuperinae como um grupo monofilético com respeito à *P. falcipes* em sua análise filogenética focando o gênero *Pleurodema*. Os relacionamentos de Leptodactylidae são instáveis (Frost *et al.*, 2006; Pyron e Wiens, 2011) e, como não era objetivo do presente trabalho o teste da monofilia de Leiuperinae, este resultado deve ser tratado com cautela.

As topologias das árvores obtidas nas análises de Fouquet *et al.* (2014) divergem entre si no que diz respeito ao clado Mata Atlântica; pois o posicionamento filogenético dos clados Thomei, *A. araucaria* + *A. sp. R* e *A. Ajurauna* + *A. sp. S* mudam de acordo com a análise empregada. De maneira geral nossa análise se assemelha à topologia encontrada na análise bayesiana com *dataset* concatenado de 320 terminais de Fouquet *et al.* (2014), mas o posicionamento do clado Thomei é distinto. Enquanto Fouquet *et al.* (2014) recuperam o clado Thomei como irmão dos do clado Hylaedactyla + Martinezi, apesar do baixo valor de probabilidade posterior (0,60), nós recuperamos o clado Thomei como irmão do clado Marmorata com valor razoável de suporte Jackknife (90) na análise de parcimônia.

Nosso resultado é corroborado por dados citogenéticos encontrado por Campos *et al.* (2009). Neste trabalho os autores mostram que o cromossomo metacêntrico par 1 de longos braços, característicos de “*A. cf. marmorata*” (= *A. marmorata*) e “*A. aff. bokermanni*” (= *A. thomei*), está ausente em *A. hylaedactyla*. Nesta última, dois pares a mais de cromossomos

telocêntricos são observados. Provavelmente estes cromossomos (pares 5 e 6) são homólogos aos braços do cromossomo par 1 de *A. marmorata* e *A. thomei*, uma vez que seus tamanhos correspondem, respectivamente, ao braço longos e curtos do cromossomo 1 destas espécies (Campos *et al.*, 2009). A ocorrência de populações de *A. hyaledactyla* nos estados de Alagoas e Pernambuco faz com que as espécies do gênero *Adenomera* da Mata Atlântica não sejam recuperadas num único clado. Contudo, se considerarmos as espécies que apresentam toda a sua distribuição na Mata Atlântica, esse grupo passa a ser monofilético, já que a maior parte da distribuição de *A. hyaledactyla* se dá no Cerrado e Amazônia.

DELIMITAÇÃO ESPECÍFICA EM *ADENOMERA* NOS CLADOS *THOMEI* E *MARMORATA*

Devido ao fato do gênero *Adenomera* apresentar “uma taxonomia caótica” (Duellman, 2005), muitos trabalhos sobre delimitação específica e diversidade envolvendo bioacústica e morfologia do gênero chegaram a resultados não conclusivos devido às limitações na amostragem para comparação (*e.g.*, Kwet, 2007; Angulo e Reichle, 2008). Neste sentido, o trabalho de Fouquet *et al.* (2014) foi importante para que entendêssemos de uma forma mais abrangente os grandes padrões de diversidade do gênero. Contudo, neste trabalho a proposta de cada espécie candidata confirmada foi embasada, em sua maioria, a partir de dados indiretos ou com baixa amostragem de indivíduos para conferência de dados morfológicos e acústicos.

Heyer (1973) descreveu padrões de tamanho corporal, coloração dorsal e ventral, textura dorsal e expansão das extremidades dos artelhos, observados no gênero *Adenomera*. Destes, o autor encontrou que o tamanho corporal e padrões de coloração dorsal variavam igualmente intrapopulacionalmente e entre as espécies de *Adenomera* analisadas, o que foi

encontrado também por nós. Com uma amostragem maior de dados moleculares dos clados Thomei e Marmorta, encontramos a mesma diversidade encontrada previamente por Fouquet *et al.* (2014). No entanto, com uma amostragem de morfologia e bioacústica a partir de dados diretos utilizados na análise filogenética, mostramos que a delimitação específica dentro do clado Marmorata requer cautela.

O gênero *Adenomera* é morfologicamente mais conservativo do que podemos estabelecer a partir de dados acústicos ou moleculares. As diferenças entre a maioria das espécies são muito sutis e o grau de variação intrapopulacional é alto. Isto faz com que a análise morfológica no gênero seja uma tarefa difícil. Não obstante, algumas características apresentadas por Heyer (1973) parecem não apresentar variação intrapopulacional, como expansão das extremidades dos artelhos. Concordamos com esse autor e, além disso, verificamos que o padrão de colorido da região lateral do corpo também parece ser constante dentro de cada espécie do clado Mata Atlântica.

Análises genéticas utilizando o DNA barcoding, conduzidas com um conhecimento sólido de sistemática e taxonomia, são uma ótima ferramenta que pode revelar rapidamente espécies crípticas e refinar o conhecimento da distribuição das espécies (Rocha *et al.*, 2007; Crawford *et al.*, 2012). No entanto, quando todo arcabouço taxonômico está ausente, alguns autores sugeriram o uso de valores limiares de divergência nos fragmentos mitocondriais COI e 16S que aparentavam estar associados ao status específicos dos clados (Crawford *et al.*, 2012). Vences *et al.* (2005a), argumentando contra um valor de divergência genética universal de corte para delimitação específica, trabalharam com sequências do fragmento 16S de anfíbios e encontram que linhagens heteroespecíficas podem apresentar divergências pequenas entre si (como 2%), assim como populações coespecíficas podem apresentar alta

divergência no mesmo fragmento (como 6%). Entretanto, como uma primeira aproximação, foram sugeridos os valores de divergência de 5% no 16S e 10% no COI como limiares de corte para proposição de espécies candidatas em potencial (Vences *et al.*, 2005b). Subsequentemente, outro valor de corte mais baixo (3% de divergência no 16S) foi sugerido por Fouquet *et al.* (2007). Embora amplamente utilizado no universo dos estudos taxonômicos com anfíbios (*e.g.*, Fouquet *et al.*, 2012; Funk *et al.*, 2012), há demonstrações adicionais da inadequação do critério de um valor limiar de corte baseados em fragmentos de DNA para proposta de delimitação específica em anuros. Por um lado, espécies morfologicamente distintas podem apresentar valores de divergência baixíssimos—*e.g.*, *Dendropsophus manonegra* Orrico & Rivera-Correa, 2012—enquanto outras espécies apresentam divergências populacionais muito maiores do que os valores estabelecidos como universais (ver Padial *et al.*, 2009). Especificamente para *Adenomera*, Fouquet *et al.* (2014) utilizaram a abordagem de estabelecer um primeiro valor de corte interespecífico como sendo o menor valor da distância p corrigida encontrado entre espécies reconhecidamente distintas (7,6% de divergência entre *A. nana* e *A. engelsi*). Clados que apresentaram valores de divergência maior do que 7,6% foram considerados como espécies candidatas não confirmada e, caso estas espécies candidatas apresentassem alguma outra evidência fenotípica distinguindo-as, baseado em descrições de espécies na literatura ou, em poucos casos, baseados em informações morfológicas e acústicas do material testemunho sequenciado, estas foram consideradas como espécies candidatas confirmadas. Apesar desta ter sido uma boa aproximação como uma primeira abordagem da diversidade do gênero e como sugestão para investigação das espécies crípticas apontadas por Fouquet *et al.* (2014), a tentativa de utilizar esses valores limiares de corte como critério para delimitação de espécies se mostrou inútil no nosso trabalho. Isso porque a concordância entre os valores

limiares propostos e a delimitação baseada na congruência com dados fenotípicos foi baixa, quando aumentamos a amostragem de dados diretos.

Como apresentado por Vences *et al.* (2005a), também encontramos algumas espécies candidatas com alta divergência genética em fragmentos de genes mitocondriais do 16S (6,4%) e COI (10%) que não puderam ser distinguidas entre si com base fenotípica (*e.g.*, *A. thomei* vs *A. sp. L*, ver Tabela 2) e espécies candidatas com baixa divergência genética nos mesmos fragmentos (2,5% e 8,8% para 16s e COI respectivamente) que são prontamente reconhecidas por dados fenotípicos (*e.g.*, *A. nana* vs *A. bokermanni*, ver Tabela 2). É bastante claro que o uso de um valor limiar de divergência genética é pouco fundamentado na prática e pelos resultados empíricos de estudos que tentaram integrar essa informação a outras fontes de evidência

CLADO THOMEI

O padrão de desenhos na região interorbital de *A. thomei*, apontado por Almeida e Angulo (2002) como diagnóstico para a espécie, também foi encontrado em outras populações de outras espécies do clado Marmorata (*e.g.*, *A. bokermanni*, *A. sp. O* e *A. engelsi*). Almeida e Angulo (2002), ao descreverem *A. thomei*, identificam o material de Ilhéus – BA (presumivelmente *A. sp. L*) e de Governador Linderberg – BA (presumivelmente *A. sp. M*), como *A. cf. thomei*. Apesar da divergência genética encontrada entre as espécies *A. thomei*, *A. sp. L* e *A. sp. M*, não foi possível distingui-las acusticamente. Dois indivíduos analisados de *A. sp. M* apresentaram CRC maior do que *A. sp. L* e *A. thomei*. Alguns dados fenotípicos devem ser tratados com muita cautela quanto a amostragem é baixa, e a importância da diferença observada deve ser avaliada (Vanzolini, 1993). Tendo observado como o tamanho corporal pode variar dentro de cada espécie do clado Mata Atlântica, não

consideramos prudente afirmar a partir desta única evidência e com tamanho amostral pequeno, que *A. sp. M* constitui uma espécie distinta de *A. thomei* e *A. sp. L*.

Fouquet *et al.* (2014) compararam dados acústicos de *A. thomei* apresentados por Almeida e Angulo (2002) com dados diretos das populações de *A. sp. L* e *A. sp. M* que suportaram a hipótese destas constituírem espécies distintas. Com uma amostragem aumentada ao longo da distribuição geográfica de *A. thomei*, esta diferença se dilui e deixa de ser diagnóstica. Ainda assim, mesmo com o aumento da amostragem de dados acústicos de *A. thomei* ao longo da sua distribuição geográfica, são intrigantes as diferenças nas frequências dominantes entre a população de Linhares – ES e todas as demais populações de *A. thomei* (Figura 7). Almeida e Angulo (2002) realizaram a gravação dos indivíduos de *A. thomei* de Linhares – ES que são marcadamente distintas dos demais cantos de anúncio das demais populações da espécie. Filogeneticamente as populações de *A. thomei* de Linhares – ES não são recuperados como um clado distinto das demais populações da espécie, como por exemplo da população de Santa Barbara – MG, que apresenta frequência dominante semelhante às demais populações de *A. thomei* (mediana de 4134 kHz). Assim, um estudo focando a variação acústica da população de *A. thomei* de Linhares – ES se faz necessário para clarificar estes dados tão discrepantes das demais populações apresentadas por Almeida e Angulo (2002).

Adenomera thomei ocorre em áreas abertas de pasto, florestas alteradas (plantações de cacau ou seringais) ou em bordas de mata, desde o nível do mar até 1000 metros de altitude. A distribuição da espécie coincide com várias localidades descritas para *A. bokermanni* por Heyer (1973), o que já foi mostrado nas considerações taxonômicas e será

discutido mais adiante. Em algumas localidades *A. thomei* ocorre em simpatria com *A. marmorata* (*A. sp. K* e *A. sp. J*), porém nunca foram vistas em sintopia.

CLADO MARMORATA NORTE

As espécies irmãs *A. ajurauna* e *A. sp. n* “canto curto” (= *A. sp. S* sensu Fouquet *et al.*, 2014) estão distribuídas no sudeste do estado de São Paulo ao sul do Rio Tietê e ocorrem em sintopia em Miracatu – SP. A espécie *A. ajurauna* apresentou uma variação morfológica intrapopulacional maior do que o esperado. Essa espécie, que teria por diagnose padrão de colorido escuro, inclusive a gula (Berneck *et al.*, 2008), mostrou-se variável dentro de uma mesma população e, ao longo da sua distribuição geográfica, apresenta uma grande variação acústica. Apesar de toda a variação observada, *A. ajurauna* se distingue prontamente da sua espécie irmã *A. sp. n* “canto curto” por detalhes do canto, inclusive em Miracatu – SP, onde são sintópicas. Além do canto de anúncio com material testemunho sequenciado de Guaratuba – PR, tivemos acesso ao canto descrito como *A. sp. 3* da mesma localidade (Kwet, 2007). As nossas gravações do canto de anúncio e as gravações deste autor não se distinguem acusticamente, correspondendo à espécie *A. sp. n* “canto curto”. Adicionalmente, *A. sp. n* “canto curto” apresenta um padrão de coloração na lateral do corpo não muito comum no clado Mata Atlântica, que é a presença de pequenos pontos marrom escuro num fundo cinza, ao invés de manchas marrom escuro.

Recuperamos os mesmos relacionamentos apresentados por Fouquet *et al.* (2014) para os clados correspondentes às espécies *A. marmorata* (= *A. marmorata*, *A. sp. J*, *A. sp. K* e *A. sp. A*). A localidade tipo de *A. marmorata*, incerta até o momento (Almeida e Angulo, 2006; Berneck *et al.*, 2008) foi redefinida. De acordo com a rota da expedição Fregatte Novara (Steindachner, 1867), diferentes autores concordam que a localidade tipo da espécie

é a cidade do Rio de Janeiro – RJ ou suas proximidades (Bokermann, 1966; Heyer, 1973; Almeida e Angulo, 2006). Mesmo com uma amostragem aumentada, também encontramos apenas uma espécie nessa região, como Fouquet *et al.* (2014).

Um canto distinto de um único indivíduo foi descrito em Teresópolis (Angulo, 2004; Almeida e Angulo, 2006) e Fouquet *et al.* (2014) sugerem que este indivíduo pode corresponder à espécie candidata A. sp. K. *Adenomera trivittata* foi descrita por A. Lutz (1926) para as populações de “Alto da Serra Cubatão de Cubatão” (= Paranapiacaba – SP) e “Campo Bello” (= Itatiaia – RJ). Cochran (1961) restringiu a localidade da espécie para “Campo Belo, Rio de Janeiro, Brasil). Assim, se válido, este nome estaria disponível para espécie candidata A. sp. K. Contudo, não foi possível distinguir as espécies candidatas A. sp. K e *A. marmorata* morfológica ou acusticamente.

A espécie candidata irmã de *A. marmorata*, A. sp. J (Fouquet *et al.*, 2014), está distribuída na porção central da Serra do Mar no estado de São Paulo. Ocorre em simpatria com *A. ajurauna* na sua distribuição mais ao norte e com *A. ajurauna* e A. sp. O na sua distribuição mais ao sul. A espécie candidata A. sp. J não foi observada em simpatria com sua espécie irmã, *A. marmorata*, como indicado por Fouquet *et al.* (2014). No entanto, parece haver um ponto de simpatria entre A. sp. J (AF467) e A. sp. K (491_Ubat, 530_Ubat) na praia Vermelha, município de Ubatuba – SP (Figuras 17a e 17b). Contudo, todos os indivíduos desta localidade coletados e analisados molecularmente por nós foram recuperados como A. sp. K e acusticamente os indivíduos desta população não se distinguem de A. sp. J analisados por nós.

As populações continentais analisadas de A. sp. J são menores que todas as populações de *A. marmorata* e A. sp. K, em acordo com o que foi encontrado por Fouquet *et*

al. (2014). Por outro lado, indivíduos da população insular de *A. sp. J* da Ilha de Alcatrazes apresentam tamanho corporal maior do que o de indivíduos de todas as populações de *A. marmorata* e *A. sp. K*. O gigantismo de vertebrados em ilhas tem sido relatado há muito tempo em literatura em algumas espécies (Grant, 1965; Shoener, 1970; Pregill e Worthy, 2003; Keogh *et al.*, 2005, Montesinos *et al.*, 2012). A ausência de predadores nas comunidades insulares pode selecionar indivíduos maiores, levando organismos pequenos a um incremento de tamanho (Grant, 1965; Shoener, 1970). Apresentar um porte maior permite ao indivíduo i) explorar uma diversidade maior de recursos; adquirindo mais recursos, ii) gerar um número maior de descendentes; iii) apresentar vantagem em lutas territoriais ou outras interações associadas à competição por recursos; e iv) possuir mais energia e reservas de água, resultando em maior habilidade para resistir à fome e à seca (Brown & Lomolino, 1998).

Todas as populações de *A. marmorata* [= *A. marmorata*, *A. sp. J*, *A. sp. K* e *A. sp. A* *sensu* Fouquet *et al.*, 2014)] apresentam as extremidades dos artelhos não expandidas, lateral do corpo com manchas marrom-escuro sob fundo cinza (ou amarelo em espécimes antigos) e machos com glândula ectopeitoral pouco entumecida. Todos os parâmetros analisados apresentaram sobreposição de valores entre estas espécies candidatas. Os dados citogenéticos encontrados por Campos *et al.* (2009) corroboram a ideia de que essas espécies não são distinguíveis. Analisamos dois indivíduos desse trabalho: CFBH 1512 (225_Sbca; *A. marmorata*) e CFBH 17137 (239_IAlca; *A. sp. J*), de Santa Branca – SP e Ilha de Alcatrazes – SP, respectivamente (Figuras 17b e 17c). Nenhuma diferença citogenética foi encontrada entre estas duas amostras (Campos *et al.*, 2009). No entanto, amostras de Salesópolis – SP, Ubatuba – SP e São Luís do Paraitinga – SP, apresentaram o par de cromossomos 12 metacêntrico (cariótipo B *sensu* Campos *et al.*, 2009), diferente dos cariótipos de Santa

Branca e Ilha de Alcatrazes que apresentam o mesmo par de cromossomos telocêntrico (cariótipo A *sensu* Campos *et al.*, 2009). Não tivemos acesso às amostras de tecidos dos indivíduos analisados por Campos *et al.* (2009) que apresentaram o cariótipo A. Nossas amostras do estado de São Paulo, municípios de Salesópolis (USNM 303076; A. sp. J), São Luiz do Paraitinga (495_SLPPar , 502_ SLPPar , 506_ SLPPar; A. sp. K) e Ubatuba (16_Ubat, AF_406; A. *marmorata*; 193_Ubat, 439_Ubat, 479_Ubat, 491_Ubat, 510_Ubat, 524_Ubat, 530_Ubat, 534_Ubat; A. sp. K), juntamente com os dados diretos citados anteriormente, não refletem evolutivamente a separação destes dois tipos de cariótipo. Assim como Campos *et al.* (2009), concluímos que esta diferença encontrada no par de cromossomos 12 é uma variação interpopulacional. As ocorrências simpátricas de A. sp. J e A. *marmorata* e de A. sp. K e A. *marmorata* na nossa análise filogenética (já descritas anteriormente), somadas à falta de evidência fenotípica diagnóstica que as separe, levaram-nos a concluir que estas entidades fazem parte de uma única unidade biológica fundamental: A. *marmorata*.

CLADO MARMORATA SUL

Apesar de poucos espécimes analisados morfológicamente, pudemos observar que A. sp. “catarinense” (= A. sp. R) apresenta expansão na extremidade dos artelhos, enquanto A. *araucaria* não apresenta tal expansão. Apesar de Kwet (2006, 2007) não mencionar esta característica morfológica, é possível observá-la nas fotos dos espécimes vivos de A. *araucaria* e A. cf *araucaria* (=A. sp. n. “catarinense”) apresentadas pelo autor. Além disso, A. *araucaria* e A. sp. “catarinense” apresentam cantos de anúncio distintos. Diferenças entre o canto de A. sp. “catarinense” de Florianópolis e o canto de A. *araucaria* já haviam sido reportadas por Kwet (2006, 2007), que considerou a população de Florianópolis – SC (=A. sp. “catarinense”) como sendo *Adenomera* cf. *araucaria*. Não obstante, Conte *et al.* (2010)

analisaram a bioacústica de espécimes da ilha de Florianópolis – SC e atribuíram-nos a *A. araucaria*.

Adenomera nana encontrava-se na sinonímia de *A. marmorata* e foi revalidada por Kwet (2006) com base em parâmetros acústicos das populações austrais do que então estava sendo chamado de *A. marmorata*. Nestas populações de *A. nana*, a frequência fundamental difere da frequência dominante, o que não ocorre com as populações de *A. marmorata* (Kwet, 2006, tabela 2). Kwet (2006, 2007) encontrou variações acústicas nas populações de Jaraguá do Sul – SC e Guajaramirim – SC, atribuindo a estas populações o nome de *Adenomera* sp. 2. Não tivemos acesso a dados diretos de cantos de *A. sp. 2* (apenas dados diretos de morfologia). No entanto, através dos cantos de *A. sp. 2* cedidos por Axel Kwet, pudemos concluir que esta espécie (Kwet, 2006, 2007) não difere acusticamente de *A. nana*.

Adenomera engelsi foi recuperada como espécie irmã de *A. nana* nas análises de filogenia molecular (como em Fouquet *et al.*, 2014). *Adenomera engelsi* foi primeiramente citada na literatura como *A. sp. 1* (ver Kwet, 2006, 2007) e sua distribuição geográfica tem sido consistente na literatura como sendo restrita à ilha de Florianópolis – SC e áreas continentais adjacentes (Conte *et al.*, 2010; Kwet *et al.*, 2009). Na ilha de Florianópolis, portanto, é possível encontrar três espécies: *A. engelsi*, *A. nana* e *A. sp. R*.

Apesar de *A. sp. N* apresentar machos com CRC menor do que machos de *A. engelsi* e *A. nana*, não apresentamos esta espécie candidata como uma espécie plena pelos mesmos motivos discutidos anteriormente de não considerarmos de *A. sp. M* de *A. thomei* espécies distintas. Adicionalmente, a falta de dados acústicos de *A. sp. N* não nos permite atribuir esta espécie candidata como *A. engelsi* ou *A. nana* com confiança (ainda que sua morfologia

externa se assemelhe mais à *A. nana*). Assim, se faz necessário a obtenção de dados acústicos para clarificar o status específico da espécie candidata *A. sp. N*.

Como observado por Fouquet *et al.* (2014), *A. bokermanni* apresenta uma distribuição muito mais limitada do que descrita anteriormente, estando restrita às regiões costeiras do Paraná (incluindo Paranaguá – PR, a localidade-tipo da espécie) e nordeste de Santa Catarina. Ao contrário de Fouquet *et al.* (2014), concluímos que *A. sp. 2* (Kwet, 2007) corresponde a *A. nana* e não a *A. bokermanni*, mas concordamos que *A. sp. 4* (Kwet, 2006) corresponde a *A. bokermanni*. É muito provável que a maioria dos parátipos incluídos por Heyer (1973) na descrição original de *A. bokermanni* não pertença a esta espécie. Na verdade, Heyer (1973) afirma que os indivíduos das diferentes populações incluídas na série tipo são morfologicamente diferentes dos indivíduos da localidade tipo, mas que isto poderia ser atribuído à variação morfológica da espécie. Mais tarde, Heyer (1977, 1984) afirma que a série tipo de *A. bokermanni* deve ser composta por pelo menos duas espécies distintas. Pelas localidades dos parátipos incluídos na descrição original de *A. bokermanni* (Heyer, 1973), a série tipo deve ser composta por *A. marmorata* e *A. thomei*, além de *A. bokermanni*. Inclusive, Heyer (1973) descreve um girino supostamente de *A. bokermanni*, proveniente de Campos do Jordão, que coincide com a descrição do girino de *A. thomei* (Angulo e Almeida, 2006).

ESPÉCIES CRÍPTICAS E ESPÉCIES PARAFILÉTICAS

Espécies crípticas são morfologicamente indistinguíveis ou quase indistinguíveis e podem passar despercebidas, sendo tratadas sob um mesmo nome (Bickford, 2007; Rocha *et al.*, 2007). Espécies morfologicamente idênticas, mas que apresentam cantos de anúncio distintos, são exemplificadas pelas duplas de espécies *Sphaenorhynchus surdus* e *S.*

caramaschi (Toledo *et al.*, 2007) e *A. martinezi* e *A. saci* (Carvalho e Giaretta, 2013). No entanto, espécies sem características fenotípicas diagnósticas (morfológicas ou acústicas), mas com histórias evolutivas distintas, também têm sido descritas. Um exemplo é *Engystomops guayaco* (Ron *et al.*, 2005), que não possui características diagnósticas mas apresenta diferenças estatísticas “quase significativas” em alguns parâmetros acústicos e morfométricos em relação a *Engystomops montubio* (Ron *et al.*, 2004), uma espécie pouco relacionada (ver Ron *et al.*, 2005). Surpreendentemente, nestes trabalhos não há, ou há pouca, discussão acerca de espécies crípticas.

Não recuperamos as espécies *A. bokermanni* e *A. sp. O* como espécies irmãs, corroborando o resultado encontrado por Fouquet *et al.* (2014). No entanto, nenhuma característica fenotípica que distinguisse estas duas espécies foi encontrada. Neste contexto há três tomadas de decisão possíveis: considerá-las como i) duas espécies indistinguíveis; ii) uma única espécie parafilética ou iii) considerar *A. sp. O*, *A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. nana* e *A. sp. N* como coespecíficas com uma grande variação morfológica e acústica. Esta última opção é a menos provável, uma vez que as evidências morfológicas e acústicas mostram o contrário—i.e., há diagnoses diferenciais e exclusivas entre as espécies restantes e delas com *A. bokermanni* + *A. sp. O*.

Espécies parafiléticas têm sido descritas (ou reconhecidas) recentemente (Grazziotin *et al.*, 2006; Barbo *et al.*, 2012; Portillo e Greenbaum, 2014). Porém, para o seu reconhecimento sempre há uma evidência biogeográfica, por serem associadas a ilhas ou topos de montanhas. Entretanto, testar a hipótese de espécies parafiléticas continentais não distribuídas em topos de morros e montanhas, com diversificação entre o Mioceno e Plioceno (cerca de 5 milhões de anos), não é trivial com as metodologias disponíveis atualmente.

Reconhecer que *A. bokermanni* e *A. sp.* O são espécies distintas, sem nenhuma característica fenotípica que as diferencie, deve ser uma decisão tomada com bastante cautela e não feita sem antes averiguar outras fontes de evidência. Uma vez que neste caso não é possível testar os processos que levariam à parafilia das espécies em questão consideramos aqui *A. sp. O* e *A. bokermanni* como espécies distintas devido à evidência histórica encontrada na análise filogenética.

AMOSTRAGEM E UTILIZAÇÃO DE DADOS DIRETOS

Quando uma amostragem fenotípica representativa, ao longo da distribuição geográfica da espécie, é inserida a partir de dados diretos nas análises filogenéticas que abordam delimitação específica, os resultados tendem a mostrar uma maior homogeneidade entre as entidades a serem comparadas do que seria o esperado. Por exemplo, numa análise “integrativa”, Jansen *et al.* (2011) questionaram o status taxonômico das populações bolivianas de *Leptodactylus vastus* Lutz, 1930 e sugeriram que estas populações deveriam representar espécies distintas com base em distância genética e evidências ecológicas. Posteriormente, Jansen e Schulze (2012) fizeram uma análise da variação morfológica de espécies do grupo de *L. labyrinthicus* (Spix, 1824) e, também considerando uma análise filogenética bayesiana concluíram que as populações bolivianas de *L. vastus* são todas coespecíficas com as populações do Brasil.

Adicionalmente, Schulze e Jansen (2012) observaram que duas populações bolivianas distintas de *L. vastus* apresentavam modos reprodutivos distintos: uma população que constrói ninhos de espuma subterrâneos próximos a um corpo d'água e outra população que constrói ninhos de espuma dentro de cupinzeiros afastados de corpos d'água. Os autores

sequeenciaram os girinos de cada um dos ninhos de espuma encontrados e verificaram que pertenciam à mesma espécie (*p-distance*: 0%; JN004163 vs. JN004158); portanto assumiram que dentro de *L. vastus* existe uma plasticidade quanto à biologia reprodutiva. Este é um bom exemplo de como dados diretos (claramente associados a exemplares tesemunho) evitam interpretações errôneas de padrões filogenéticos encontrados.

Já em estudos de taxonomia alfa, ainda não é comum a descrição da variação morfológica de espécies ao longo de sua distribuição geográfica. A variação morfológica em descrições de espécie costuma se resumir apenas à população da localidade de onde a espécie foi descrita, quando não apenas dos parátipos coletados. Assim, quando taxonomistas analisam a variação morfológica de uma espécie para entender seus limites específicos, muitas vezes observam clinas de variação morfológica ao longo das distribuições das espécies (*e.g.*, Cassini *et al.*, 2013). Em alguns casos chega a ser impossível separar duas espécies antes consideradas com nomes distintos, pois estas representariam na verdade os dois extremos da distribuição de uma única unidade biológica—*e.g.*, o estudo sobre a variação de *Trachycephalus typhonius* (Linnaeus, 1758) por Duellman (1971), onde nada menos que seis nomes são colocados na sinonímia desta espécie.

Em alguns casos, uma simples comparação entre duas séries-tipo distintas pode demonstrar que as diferenças específicas sugeridas nas descrições originais de um determinado par (ou mais) de espécies não se sustentam (*e.g.*, Cardozo e Lobo, 2009; Orrico *et al.*, 2013), pois o uso de poucas amostras e geograficamente restritas (comparadas com a distribuição total do taxon em questão) pode levar a conclusões precipitadas. Não obstante, também parece bastante claro que a diversidade de anfíbios neotropicais está bastante subestimada. O ritmo de descrição de espécies tem se acelerado nos últimos anos mesmo em

taxa considerados comuns e facilmente encontrados em campo, a curva de acumulação de trabalhos de descrição de espécies parece longe de uma estabilidade (Motta *et al.*, 2012).

Desta maneira, fica evidente que o uso da maior quantidade (e variedade) de dados possível é imprescindível para a realização de uma análise taxonômica consistente. No caso do gênero *Adenomera* especificamente, embora Fouquet *et al.* (2014) tenham utilizado uma quantidade muito grande de informação, os resultados do presente estudo demonstram que apenas a quantidade não é suficiente para a obtenção de um resultado sólido; a qualidade dos dados também é muito relevante. Embora o protocolo utilizado naquele trabalho seja integrativo, cruzando informações genéticas com dados fenotípicos indiretos, apenas com a obtenção de cantos e amostras de tecido associadas aos mesmos testemunhos utilizados na análise filogenética, foi possível delimitar com mais precisão as espécies candidatas levantadas por Fouquet *et al.* (2014) do clado Mata Atlântica.

CONCLUSÕES

- As espécies que apresentam toda a sua distribuição dentro do bioma Mata Atlântica foram recuperadas como um grupo monofilético na nossa análise filogenética.
- Todas as espécies candidatas sugeridas por Fouquet *et al.* (2014) foram recuperadas como grupos monofiléticos.
- Das 16 espécies candidatas propostas por Fouquet *et al.* (2014) para o clado Mata Atlântica, pudemos delimitar nove espécies: *A. thomei*, *A. ajurauna*, *A. sp. n. “canto curto”* (= *A. sp. S*), *A. marmorata*, *A. araucaria*, *A. sp. n. “catarinesnse”* (= *A. sp. R*), *A. bokermanni*, *A. engelsi* e *A. nana*.
- Não foi possível delimitar fenotipicamente a espécie candidata *A. sp. n. “sambaqui”* (= *A. sp. O*) por não conseguirmos distingui-la de *A. bokermanni*. No entanto, por aplicarmos o ceneito de espécie como indivíduo histórico e por não podermos testar a hipótese de espécies parafiléticas, descartamos a hipótese de *A. sp. n. “sambaqui”*, *A. bokermanni*, *A. nana* e *A. engelsi* representarem uma única espécie e consideramos *A. sp. n. “sambaqui”* como uma espécie plena.
- A importância de se utilizar dados diretos em trabalhos envolvendo análise filogenética molecular e dados fenotípicos em grupos de taxonomia complexa, como o gênero *Adenomera*, é de suma importância para evitar conclusões errôneas acerca da delimitação específica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, A. d. P., Angulo, A. 2002. *Adenomera* aff. *marmorata* (NCN). Reproduction. Herpetological Review 33, 197–198.
- Almeida, A. d. P., Angulo, A. 2006. A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the state of Espírito Santo, Brazil, with remarks on the systematics of associated populations. Zootaxa 1334, 1–25.
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schaffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D. J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Research 25.
- Angulo, A. 2004. The evolution of the acoustic communication system in members of the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae): A comparative approach. Graduate Department of Zoology. University of Toronto, Toronto, pp. xx + 232.
- Angulo, A., Cocroft, R. B., Reichle, S. 2003. Species Identity in the Genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in Southeastern Peru. Herpetologica 59, 490–504.
- Angulo, A., Icochea, J. 2010. Cryptic species complexes, widespread species and conservation: lessons from Amazonian frogs of the *Leptodactylus marmoratus* group (Anura: Leptodactylidae). Systematics and Biodiversity 8, 357–370.
- Angulo, A., Reichle, S. 2008. Acoustic signals, species diagnosis, and species concepts: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. Zoological Journal of the Linnean Society 152, 59–77.

- Barbo, F. E., Grazziotin, F. G., Sazima, I., Martins, M., Sawaya, R. J. 2012. A New and Threatened Insular Species of Lancehead from Southeastern Brazil. *Herpetologica* 68, 418–429.
- Berneck, B. V. M., Costa, C. O. R. D., Garcia, P. C. d. A. 2008. A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of São Paulo State, Brazil. *Zootaxa* 1795, 46–56.
- Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Ng, P. K. L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. K., Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 148–155.
- Biju, S. D., Bossuyt, F. 2003. New frog family from India reveals an ancient biogeographical link with the Seychelles. *Nature* 425, 711–714.
- Boistel, R., de Massary, J. C., Angulo, A. 2006. Description of a new species of the genus *Adenomera* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from French Guiana. *Acta Herpetologica* 1, 1–14.
- Bokermann, W. C. A. 1966. Lista anotada das localidades tipo de anfíbios brasileiros. Serviço de Documentação, Reitorado da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Brown, J. H., Lomolino, M. V. 1998. Biogeography. Sinauer Associate, Sunderland (Massachusetts).
- Campos, J. R. C., Ananias, F., Brasileiro, C. A., Yamamoto, M., Haddad, C. F. B., Kasahara, S. 2009. Chromosome evolution in three Brazilian *Leptodactylus* species (Anura, Leptodactylidae), with phylogenetic considerations. *Hereditas* 146, 104–111.

- Cardozo, D., Lobo, F. 2009. *Pseudopaludicola mirandae* Mercadal de Barrio and Barrio, 1994 (Anura, Leiuperidae) Is a Junior Synonym of *Pseudopaludicola boliviana* Parker, 1927. *Journal of Herpetology* 43, 685–687.
- Carvalho, T. R. d., Giaretta, A. A. 2013a. Bioacoustics reveals two new syntopic species of *Adenomera* Steindachner (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) in the Cerrado of central Brazil. *Zootaxa* 3731, 533–551.
- Carvalho, T. R. d., Giaretta, A. A. 2013b. Taxonomic circumscription of *Adenomera martinezi* (Bokermann, 1956) (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) with the recognition of a new cryptic taxon through a bioacoustic approach. *Zootaxa* 3701, 207–237.
- Cassini, C. S., Cruz, C. A. G. d., Caramaschi, U. 2010. Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa* 2491, 1–33.
- Cassini, C. S., Orrico, V. G. D., Dias, I. R., Solé, M., Haddad, C. F. B. 2013. Phenotypic variation of *Leptodactylus cupreus* Caramaschi, São-Pedro and Feio, 2008 (Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa* 3616, 73–84.
- Cochran, D. M. 1955. Frogs of Southeastern Brazil. *Bulletin of the United States National Museum* 206, 1–423.
- Cochran, D. M. 1961. Type Specimens of Reptiles and Amphibians in the U.S. National Museum. *Bulletin of the United States National Museum* 220, 1–291.

- Conte, C. E., Nomura, F., Machado, R. A., Kwet, A., Lingnau, R., Rossa-Feres, D. d. C. 2010. Novos registros na distribuição geográfica de anuros na Floresta com Araucária e considerações sobre suas vocalizações. *Biota Neotropica* 10, 201–224.
- Cope, E. D. 1868. An examination of the Reptilia and Batrachia obtained by the Orton Expedition to Equador and the Upper Amazon, with notes on other species. *Proceedings of the National Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 20, 96–140.
- Cracraft, J. 1983. Species concepts and Speciation analysis. *Current Ornithology* 1, 159–187.
- Crawford, A. J., Cruz, C., Griffith, E., Ross, H., Roberto, I., Lips, K. R., Driskell, A. C., Bermingham, E., Crump, P. 2012. DNA barcoding applied to ex situ tropical amphibian conservation programme reveals cryptic diversity in captive populations. *Molecular Ecology Resources* 13, 1005–1018.
- Darwin, C. 1859. *The Origin of Species by means of Natural Selection*. Werner Company, Akron, OH.
- Dayrat, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society* 85, 407–415.
- De la Riva, I. 1995. A new reproductive mode for the genus *adenomera* (amphibia: anura: Leptodactylidae): Taxonomic implications for certain bolivian and paraguayan populations. *Studies on Neotropical Fauna & Environment* 30, 15–29.
- de la Riva, I. 1996. The specific name of *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in the Paraguay river basin. *Journal of Herpetology* 30, 556–558.

- de Queiroz, K. 2007. Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology* 56, 879–886.
- de Sá, R. O., Grant, T., Camargo, A., Heyer, W. R., Ponssa, M. L., Stanley, E. L. 2014. Systematics of the Neotropical Genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae): Phylogeny, the Relevance of Non-molecular Evidence, and Species Accounts. *South American Journal of Herpetology* 9, S1–S100.
- De Sa, R. O., Heyer, W. R., Camargo, A. 2005. Are *Leptodactylus didymus* and *L. mystaceus* phylogenetically sibling species (Amphibia, Anura, Leptodactylidae)? *Herpetologica Petropolitana. Proceedings of the 12th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica*, August 12–16, 2003, St. Petersburg, Russia. *Russian Journal of Herpetology* 12, 90–92.
- Duellman, W. E. 1971. A taxonomic review of South American hyliid frogs, genus *Phrynohyas*. *Occasional Papers of the Museum of Natural History University of Kansas* 4, 1–21.
- Duellman, W. E. 2005. *Cusco Amazónico. The lives of amphibians and reptiles in an Amazonian rainforest*. Cornell University Press, Ithaca.
- Duellman, W. E., Trueb, L. 1994. *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill, New York.
- Faivovich, J., Ferraro, D. P., Basso, N. G., Haddad, C. F. B., Rodrigues, M. T., Wheeler, W. C., Lavilla, E. O. 2012. A phylogenetic analysis of *Pleurodema* (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) based on mitochondrial and nuclear gene sequences, with comments on the evolution of anuran foam nests. *Cladistics* 28, 460–482.
- Farris, J. S., Albert, V. A., Källersjö, M., Lipscomb, D., Kluge, A. G. 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighbour-joining. *Cladistics* 12, 99–124.

- Fouquet, A., Blotto, B. L., Maronna, M. M., Verdade, V. K., Juncá, F. A., de Sá, R. O., Rodrigues, M. T. 2013. Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 67, 445–457.
- Fouquet, A., Cassini, C. S., Haddad, C. F. B., Pech, N., Rodrigues, M. T. 2014. Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Biogeography* 41, 855–870.
- Fouquet, A., Gilles, A., Vences, M., Marty, C., Blanc, M., Gemmell, N. J. 2007. Underestimation of species richness in neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. *PLoS ONE* 2, e1109.
- Fouquet, A., Loebmann, D., Castroviejo-Fisher, S., Padial, J. M., Orrico, V. G. D., Lyra, M. L., Roberto, I. J., Kok, P. J. R., Haddad, C. F. B., Rodrigues, M. T. 2012a. From Amazonia to the Atlantic forest: Molecular phylogeny of *Phyzelaphryninae* frogs reveals unexpected diversity and a striking biogeographic pattern emphasizing conservation challenges. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65, 547–561.
- Fouquet, A., Recoder, R., Teixeira Jr, M., Cassimiro, J., Amaro, R. C., Camacho, A., Damasceno, R., Carnaval, A. C., Moritz, C., Rodrigues, M. T. 2012b. Molecular phylogeny and morphometric analyses reveal deep divergence between Amazonia and Atlantic Forest species of *Dendrophryniscus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62, 826–838.

- Frost, D. 2000. Species, descriptive efficiency, and progress in systematics. In: Bruce, R. C., Jaeger, R. G., Houck, L. (Eds.), *The Biology of Plethodontid Salamanders*. Kluwer Academic/Plenum publishers, New York, New York, U.S.A., pp. 7–29.
- Frost, D. 2014. *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York.
- Frost, D. R., Grant, T., Faivovich, J., Bain, R., Haas, A., Haddad, C. F. B., de Sá, R. O., Channing, A., Wilkinson, M., Donnellan, S. C., Raxworthy, C. J., Campbell, J. A., Blotto, B. L., Moler, P., Drewes, R. C., Nussbaum, R. A., Lynch, J. D., Green, D., Wheeler, W. C. 2006. The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 297, 1–370.
- Frost, D. R., Kluge, A. G. 1994. A consideration of epistemology in systematic biology, with special reference to species. *Cladistics* 10, 259–294.
- Funk, W. C., Caminer, M., Ron, S. R. "2011"[2012]. High levels of cryptic species diversity uncovered in Amazonian frogs. *Proceedings of the Royal Society B* 279, 1806–1814.
- Gambale, P. G., Bastos, R. P. 2014. Vocal repertoire and bioacoustic analyses in *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae) from southern Brazil. *Herpetological Journal* 24, 31–39.
- Giaretta, A. A., de Freitas, F. G., Antoniazzi, M. M., Jared, C. 2011. Tadpole buccal secretory glands as new support for a Neotropical clade of frogs. *Zootaxa* 3011, 38–44.
- Goloboff, P. A. 1999. Analyzing large data sets in reasonable times: Solutions for composite optima. *Cladistics* 15, 415–428.

- Goloboff, P. A., Farris, J. S., Nixon, K. C. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24, 774–786.
- Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on Identification. *Herpetologica* 16, 183–190.
- Gourbière, S., Mallet, J. 2010. Are species real? The shape of the species boundary with exponential failure, reinforcement, and the “Missing Snowball”. *Evolution* 64, 1–24.
- Grant, P. R. 1965. The adaptive significance of some size trends in island birds. *Evolution* 19, 355–367.
- Grant, T. 2002. Testing Methods: The Evaluation of Discovery Operations in Evolutionary Biology. *Cladistics* 18, 94–111.
- Grant, T., Frost, D. R., Caldwell, J. P., Gagliardo, R., Haddad, C. F. B., Kok, P., Means, B. D., Noonan, B. P., Schargel, W. E., Wheeler, W. C. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 299, 1–262.
- Grazziotin, F. G., Monzel, M., Echeverrigaray, S., Bonatto, S. L. 2006. Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology* 15, 3969–3982.
- Hero, J.-M. 1990. An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brasil. *Amazoniana* 11, 201–262.
- Heyer, W. R. 1969. The adaptative ecology of the species of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Evolution* 23, 421–428.

- Heyer, W. R. 1973. Systematics of the *marmoratus* group of the frog genus *Leptodactylus*. Contributions in Science, Los Angeles County Museum of Natural History 251, 1–50.
- Heyer, W. R. 1974. Relationships of the marmoratus species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylidae. Contributions to Science from the Natural History Museum of Los Angeles City, 1–46.
- Heyer, W. R. 1984. The Systematic Status of *Adenomera griseigularis* Henle, with Comments on Systematic Problems in the Genus *Adenomera* (Amphibia: Leptodactylidae). Amphibia-Reptilia 5, 97–100.
- Heyer, W. R. 1998. The relationships of *Leptodactylus diedrus* (Anura, Leptodactylidae). Alytes 16, 1–24.
- Heyer, W. R., Rand, A. S., Cruz, C. A. G., Peixoto, O. L., Nelson, C. E. 1990. Frogs of Boracéia. Arquivos de Zoologia 31, 231–410.
- Heyer, W. R., Silverstone, P. A. 1969. The larva of the frog *Leptodactylus hylaedactylus* (Leptodactylidae). Fieldiana Zoology 51, 141–145.
- Jansen, M., Bloch, R., Schulze, A., Pfenninger, M. 2011. Integrative inventory of Bolivia's lowland anurans reveals hidden diversity. Zoologica Scripta 40, 567–583.
- Jansen, M., Schulze, A. 2012. Molecular, morphology and bioacoustic data suggest Bolivian distribution of a large species of the *Leptodactylus pentadactylus* group (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). Zootaxa 3307, 34–47.
- Keogh, J. S., Scott, I. A. W., Hayes, C. 2005. Rapid and Repeated Origin of Insular Gigantism and Dwarfism in Australian Tiger Snakes. Evolution 59, 226–233.

- Kluge, A. G. 1989. A Concern for Evidence and a Phylogenetic Hypothesis of Relationships Among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology* 38, 7–25.
- Kluge, A. G. 1990. Species as Historical Individuals. *Biology and Philosophy* 5, 417–431.
- Kok, P. J. R., Kokubum, M. N., MacCulloch, R. D., Lathrop, A. 2007. Morphological variation in *Leptodactylus lutzi* (Anura, Leptodactylidae) with description of its advertisement call and notes on its courtship behavior. *Phyllomedusa* 6, 45–60.
- Kokubum, M. N., Giaretta, A. A. 2005. Reproductive ecology and behaviour of a species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylinae) with endotrophic tadpoles: Systematic implications. *Journal of Natural History* 39, 1745–1758.
- Kolenc, F., Borteiro, C., Alcalde, L., Baldo, D., Cardozo, D., Faivovich, J. 2008. Comparative larval morphology of eight species of *Hypsiboas* Wagler (Amphibia, Anura, Hylidae) from Argentina and Uruguay, with a review of the larvae of this genus. *Zootaxa* 1927, 1–66.
- Kwet, A. 2006. Bioacoustics in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) from Santa Catarina, southern Brazil. In: Vences, M., Köhler, J., Ziegler, T., Böhme, W. (Eds.), 13th Congress of the Societas Europaea Herpetologica, Societas Europaea Herpetologica, pp. 77–80.
- Kwet, A. 2007. Bioacoustic variation in the genus *Adenomera* in southern Brazil, with revalidation of *Leptodactylus nanus* Müller, 1922 (Anura, Leptodactylidae). *Zoosystematics and Evolution* 83, 56–68.
- Kwet, A., Angulo, A. 2002. A new species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae) from the Araucaria forest of Rio Grande do Sul (Brazil), with comments on the systematic status of southern populations of the genus. *Alytes* 20, 28–43.

- Kwet, A., Steiner, J., Zillikens, A. 2009. A new species of *Adenomera* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest in Santa Catarina, southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna & Environment*, 1–15.
- Linnaeus, C. 1758. *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*, 10 edition.
- Lutz, A. 1926. Observations on Brazilian batrachians. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* XIX, 139–174.
- Lutz, A. 1930. Observações sobre batrachios brasileiros: Taxonomia e biologia das Elosiinae. Contribution to the Knowledge of Brazilian batrachians. Taxonomy and biology of the Elosiinae. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 24, 195–249 + 194 plates.
- Lutz, B. 1947. Trends Towards Non-Aquatic and Direct Development in Frogs. *Copeia* 1947, 242–252.
- Marquez, R., De la Riva, I., Bosch, J. 1995. Advertisement Call of Bolivian Leptodactylidae. (Amphibia, Anura). *Journal of Zoology* 237, 313–336.
- Martins, I., Jim, J. 2003. Bioacoustic analysis of advertisement call in *Hyla nana* and *Hyla sanborni* (Anura, Hylidae) in Botucatu, São Paulo, Brazil *Brazilian Journal of Biology* 63, 507–516.
- Mayr, E. 1969. The biological meaning of species. *Biological Journal of the Linnean Society*. 1, 311–320.
- McDiarmid, R., Altig, R. 1999. Body plan — Development and morphology; pp. 24–51. In: R. W. McDiarmid and R. Altig (Eds.), *Tadpoles: The Biology of Anura Larvae*. The University of Chicago Press, Chicago and London.

- Menin, M., Almeida, A. P., Kokubum, M. N. 2009. Reproductive aspects of *Leptodactylus hylaedactylus* (Anura: Leptodactylidae), a member of the *Leptodactylus marmoratus* species group, with a description of tadpoles and calls. *Journal of Natural History* 43, 35–36.
- Montesinos, R., da Silva, H. R., Carvalho, A. L. G. d. 2012. The ‘Island Rule’ Acting on Anuran Populations (Bufonidae: *Rhinella ornata*) of the Southern Hemisphere. *Biotropica* 44, 506–511.
- Motta, A. P., Castroviejo-Fisher, S., Venegas, P. J., Orrico, V. G. D., Padial, J. M. 2012. A new species of the *Dendropsophus parviceps* group from the western Amazon Basin (Amphibia: Anura: Hylidae). *Zootaxa* 3249, 18–30.
- Müller, L. 1922. Über eine Sammlung Froschlurche von Sta. Catharina nebst Beschreibung zweier neuer Arten. *Blätter für Aquarien- und Terrarien-Kunde*. Stuttgart 33, 167–171.
- Orrico, V. G. D., Duellman, W. E., Souza, M. B., Haddad, C. F. B. 2013. The Taxonomic Status of *Dendropsophus allenorum* and *D. timbeba* (Anura: Hylidae). *Journal of Herpetology* 46, 615–618.
- Orrico, V. G. D., Mongin, M. M., Carvalho-e-Silva, A. M. P. T. d. 2007. The tadpole of *Hypsiboas latistriatus* (Caramaschi & Cruz, 2004), a species of the *Hypsiboas polytaenius* (Cope, 1870) clade (Amphibia, Anura, Hylidae). *Zootaxa* 1531, 25–37.
- Padial, J. M., Castroviejo-Fisher, S., Kohler, J., Vila, C., Chaparro, J. C., De la Riva, I. 2009. Deciphering the products of evolution at the species level: the need for an integrative taxonomy. *Zoologica Scripta* 38, 431–447.

- Padial, J. M., De la Riva, I. 2009. Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 155, 97-122.
- Padial, J. M., De La Riva, I. 2010. A response to recent proposals for integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society* 101, 747–756.
- Parker, H. W. 1932. XXXVII.—The systematic status of some frogs in the Vienna Museum. *Journal of Natural History Series 10: Series 10* 10, 341–344.
- Parker, H. W. 1935. The frogs, lizards, and snakes of British Guiana. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1935, 505–530.
- Pavlinov, I. Y. 2013. The Species Problem — Ongoing Issues. InTech, Rijeka.
- Ponssa, M. L. 2008. Cladistic analysis and osteological descriptions of the frog species in the *Leptodactylus fuscus* species group (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 46, 249–266.
- Ponssa, M. L., Jowers, M. J., de Sá, R. O. 2010. Osteology, natural history notes, and phylogenetic relationships of the poorly known Caribben frog *Leptodactylus nesiotus* (Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa* 2646, 1–25.
- Portillo, F., Greenbaum, E. 2014. At the Edge of a Species Boundary: A New and Relatively Young Species of *Leptopelis* (Anura: Arthroleptidae) from the Itombwe Plateau, Democratic Republic of the Congo. *Herpetologica* 70, 100–119.
- Pregill, G. K., Worthy, T. H. 2003. A New Iguanid Lizard (Squamata, Iguinidae) from the Late Quaternary of Fiji, Southwest Pacific. *Herpetologica* 59, 57-67.

- Pyron, R. A., Wiens, J. J. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61, 543–583.
- Rivera-Correa, M., Orrico, V. G. D. 2013. Description and phylogenetic relationships of a new species of treefrog of the *Dendropsophus leucophyllatus* group (Anura: Hylidae) from the Amazon basin of Colombia and with an exceptional color pattern. *Zootaxa* 3686, 447–460.
- Rivero, J. A. 1961. Salientia of venezuela. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology, Harvard College* 126, 1–207.
- Rocha, L. A., Craig, M. T., Bowen, B. W. 2007. Phylogeography and the conservation of coral reef fishes. *Coral Reefs* 26, 501–512.
- Ron, S., Cannatella, D. C., Coloma, L. A. 2004. Two New Species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae) from Western Ecuador. *Herpetologica* 60, 261–275.
- Ron, S. R., Coloma, L. A., Cannatella, D. C. 2005. A new cryptic species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae) from western Ecuador with comments on the call structure of the *P. pustulosus* species group. *Herpetologica* 61, 178–198.
- Ryan, M. J., Rand, A. S. 2001. Feature weighting in signal recognition and discrimination by Túngara frogs. In: Ryan, M. J. (Ed.) *Anuran Communication*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C., pp. 86–101.
- Saadi, A., Machette, M. N., Haller, K. M., Dart, R. L., Bradley, L.-A., Souza, A. M. P. D. d. 2002. Map and database of Quaternary faults and lineaments in Brazil. In: Survey., U. S. G. (Ed.) *Open-File Report 02–230, Version 1.0*.

- Scherzer, K. 1861. Narrative of the circumnavigation of the globe by the austrian frigate Novara (Commodore B. Von Wullerstorf-Urbair) undertaken by order of the imperial government, in the years of 1857, 1858, & 1859, under the immediate auspices of His I. and R. Highness the archduke Ferdinand Maximilian, Commander-in-chief of the austrian navy. Saunders, Otley & Co., London.
- Schulze, A., Jansen, M. 2012. One species, two strategies? Oviposition site variation in a member of the *Leptodactylus pentadactylus* group (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). Studies on Neotropical Fauna & Environment 47, 183–191.
- Spix, J. B. 1824. Animalia nova, species novae testudinum et ranarum quas in itinere per Brasiliam annis 1817-1820 jussu et auspiciis Maximiliana Josephi I. Bavaria Regius. Hübschmann. München.
- Steindachner, F. 1867. Reise der österreichischen Fregatte Novara um die Erde in den Jahren 1857, 1858, 1859 unter den Befehlen des Commodore B. von Wüllerstorff-Urbair. K. Hof- und Staatsdruckerei, Wien.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution (submitted).
- Thomé, M. T. C., Zamudio, K. R., Giovanelli, J. G. R., Haddad, C. F. B., Baldissera, F. A., Alexandrino, J. 2010. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. Molecular Phylogenetics and Evolution 55 1018–1031.

- Toledo, L. F., Garcia, P. C. A., Lingnau, R., Haddad, C. F. B. 2007. A new species of *Sphaenorhynchus* (Anura; Hylidae) from Brazil. *Zootaxa* 1658, 57–68.
- Vanzolini, P. E. 1993. Métodos estatísticos Elementares em Sistemática Zoológica. São Paulo:Hucitec. 130 p.
- Vences, M., Thomas, M., Bonett, R. M., Vieites, D. R. 2005a. Deciphering amphibian diversity through DNA barcoding: chances and challenges. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 360, 1859–1868.
- Vences, M., Thomas, M., van der Meijden, A., Chiari, Y., Vieites, D. R. 2005b. Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. *Frontiers in Zoology* 2.
- Vieites, D. R., Wollenberg, K. C., Andreone, F., Kohler, J., Glaw, F., Vences, M. 2009. Vast underestimation of Madagascar's biodiversity evidenced by an integrative amphibian inventory. *PNAS*, 106, 8267–8272.
- Wheeler, Q., Meier, R. 2000. Species Concepts and Phylogenetic Theory. A debate. Columbia University Press, New York, New York, U.S.A.
- Wiens, J. J., Fetzner, J. W., Parkinson, C. L., Reeder, T. W. 2005. Hylid Frog Phylogeny and Sampling Strategies for Speciose Clades. *Systematic Biology* 54, 778–807.
- Wiens, J. J., Penkrot, T. A. 2002. Delimiting Species Using DNA and Morphological Variation and Discordant Species Limits in Spiny Lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology* 51, 69–91.
- Wiley, E. O. 1978. The Evolutionary Species Concept Reconsidered. *Systematic Zoology* 27, 17–26.

Yeates, D. K., Seago, A., Nelson, L., Cameron, S. L., Joseph, L. E. O., Trueman, J. W. H.
2011. Integrative taxonomy, or iterative taxonomy? *Systematic Entomology* 36, 209–
217.

CAPÍTULO 2

EVOLUÇÃO FENOTÍPICA NO GÊNERO *ADENOMERA* STEINDACHNER, 1867 COM COMENTÁRIOS ACERCA DA SUBFAMÍLIA LEPTODACTYLINAE

RESUMO

O gênero *Adenomera* possui algumas espécies com modo reprodutivo particular dentro da família Leptodactylidae--motivo pelo qual o gênero foi retirado da sinonímia de *Leptodactylus*. Estas espécies constroem câmaras subterrâneas e ninhos de espuma onde os girinos se desenvolvem até a metamorfose. No entanto, algumas espécies do gênero apresentam modo reprodutivo semelhante à de *L. fuscus*, com girinos enxotróficos, o que levou alguns autores a hipotetizarem uma evolução gradual dentro da subfamília Leptodactylinae em busca da terretorialidade. A maior parte do que sabemos hoje a respeito dos relacionamentos de *Adenomera* é basicamente proveniente de estudos primariamente moleculares e os estudos filogenéticos com abordagem morfológica incluem poucas espécies do gênero. Neste trabalho, construímos uma matriz fenotípica de 30 caracteres que, aliada à uma matriz molecular pudemos inferir sinapomorfias e padrões de evolução fenotípica no gênero *Adenomera* e nos grupos à ele relacionados.

ABSTRACT

Some species of the genus *Adenomera* present reproductive modes that are different from the remaining Leptodactylidae--the sustaining argument for the revalidation of *Adenomera* from the synonymy of *Leptodactylus*. These species construct underground chambers and foam nests where the tadpoles develop until metamorphosis. However, some *Adenomera* species present a reproductive mode similar to *L. fuscus*, with exxotrophic tadpoles that led some authors to create the hypothesis of a gradual evolution of territoriality within the subfamily Leptodactylinae. Most of what is known today of *Adenomera*'s phylogenetic relationships comes from primarily molecular studies whose phenotypic data for *Adenomea* is restricted for few species of the genus. Herein, we construc a phenotypic matrix with 30 characters that when combined with molecular data allowed to infer synapomorphies and patterns of phenotypic evolution for the genus *Adenomera* and its related groups.

EVOLUÇÃO FENOTÍPICA DO GÊNEO *ADENOMERA*

STEIDACHNER, 1867 COM COMENTÁRIOS ACERCA DA

SUBFAMÍLIA LEPTODACTYLINAE

“Em biologia nada faz sentido senão à luz da evolução” - Theodosius Dobzhansky, 1973.

INTRODUÇÃO

O gênero *Adenomera* Steindachner, 1867 é composto por pequenas rãs que ocupam o folhiço de ambientes florestais ou áreas abertas (antropizados ou não). Está distribuído na América do sul, leste dos Andes, em florestas úmidas da Amazônia e Mata Atlântica bem como no Cerrado e Chaco (Fouquet *et al.*, 2014). As espécies do gênero apresentam comportamento territorial (Almeida e Angulo, 2006), constroem pequenos ninhos subterrâneos e o modo reprodutivo geralmente envolve desenvolvimento larval terrestre (Heyer, 1969b, Angulo *et al.*, 2003; Menin e Rodrigues, 2013). Os machos constroem os ninhos afastados de corpos d'água, onde ocorre o amplexo, a oviposição e o desenvolvimento larval (Menin e Rodrigues, 2013). Contudo, algumas espécies (e.g., *A. diptyx*, *A. thomei* e *A. saci*) apresentam ninhos maiores e uma fase larval aquática, um modo reprodutivo semelhante ao de *L. fuscus* (Martins, 1988). Mais detalhes do comportamento de corte no gênero não são conhecidos.

BREVE HISTÓRICO SOBRE O GÊNERO *ADENOMERA*

A semelhança morfológica entre os gêneros *Adenomera* e *Leptodactylus* é documentada há muito tempo. Parker (1932, 195) alocou o gênero *Adenomera* como subgênero de *Leptodactylus* e Heyer (1969a, b) agrupou os integrantes do subgênero *Adenomera* no grupo de espécies de *L. marmoratus* para alocar as espécies que constroem ninhos subterrâneos e apresentam girinos endotróficos.

Após realizar uma revisão taxonômica das espécies do grupo de *L. marmoratus* (Heyer, 1973; 1974), Heyer (1974) revalidou o gênero *Adenomera* onde alocou as espécies pertencentes ao grupo *L. marmoratus* e diagnosticou o gênero por possuir tamanho corporal pequeno (até 31 mm), fontanela parietal pouco desenvolvida, quadradojugal em contato com maxila, falanges terminais em formato de “T” e região dorsal do artelho I não dividida. Estas características, no entanto, não foram recuperadas como sinapomorfias de *Adenomera* numa análise cladística posterior que incluía estas espécies, mas focada no grupo de *L. fuscus* (Ponssa, 2008). Numa extensa análise filogenética da classe Amphibia, Frost *et al.* (2006) consideraram o gênero *Adenomera* como sinônimo de *Lithodytes* e este foi considerado como um subgênero do gênero *Leptodactylus*. Embora estas sinonímias fossem opcionais dada a topologia de Frost *et al.* (2006), os autores citaram Heyer (1998) e Kokubum e Giaretta (2005), que relacionariam o gênero *Adenomera* ao grupo de *L. fuscus*, enquanto o gênero *Lithodytes* seria o grupo irmão deste último agrupamento *Adenomera* + *Leptodactylus* (veja também Giaretta *et al.*, 2011), como evidência externa de uma possível instabilidade topológica neste ponto da árvore (e, de certa maneira, para evitar a manutenção da monotipia de *Lithodytes*). Frost *et al.* (2006) argumentaram que a sinonímia resultaria em uma estabilidade taxonômica posterior maior, uma vez que *Leptodactylus* manteria a composição específica independente do relacionamento de *L. lineatus* e das espécies atribuídas a

Adenomera. Giaretta *et al.* (2011) propuseram a criação de um táxon não ranqueado, Spumoranuncula, para nomear um clado que incluiria as espécies do gênero *Adenomera* e as espécies dos grupos de *Leptodactylus fuscus* e *L. labyrinthicus*. Este táxon seria composto por espécies que apresentam girinos capazes de produzir espuma através de glândulas secretória bucais.

Embora a decisão taxonômica de Frost *et al.* (2006) não tenha sido acatada por todos os autores (e.g., Kwet, 2006; 2007; 2009; Ponssa e Heyer, 2007), análises filogenéticas morfológicas posteriores apresentam resultados que corroboraram a parafilia de *Leptodactylus* com respeito à *Adenomera* e *Lithodythes* pelo posicionamento de *Leptodactylus discodactylus* (Ponssa, 2008; Ponssa *et al.*, 2010). Nestes estudos, *Adenomera* e *Lithodythes* foram recuperados como grupos irmãos e estes, juntamente com a espécie *L. discodactylus*, foram recuperados como clado irmão das demais espécies de *Leptodactylus* (Fig. 1).

O posicionamento filogenético de *Leptodactylus discodactylus* variou em diferentes estudos. Alguns estudos recuperaram este terminal como irmão do clado *Lithodythes* + *Adenomera* (Ponssa, 2008), ao passo que outros estudos encontram este terminal inserido no clado do grupo de espécies de *L. melanonotus* (De Sá *et al.*, 2005; Pyron e Wiens, 2011; Fouquet *et al.*, 2013; De Sá *et al.*, 2014). No entanto, os estudos que amostraram uma maior quantidade de caracteres e taxa (Pyron e Wiens, 2011; Fouquet *et al.*, 2013; De Sá *et al.*, 2014) recuperaram aquela última topologia, corroborando o resultado encontrado por De Sá *et al.* (2005) e reforçando o monofiletismo recíproco entre *Leptodactylus* e *Adenomera*.

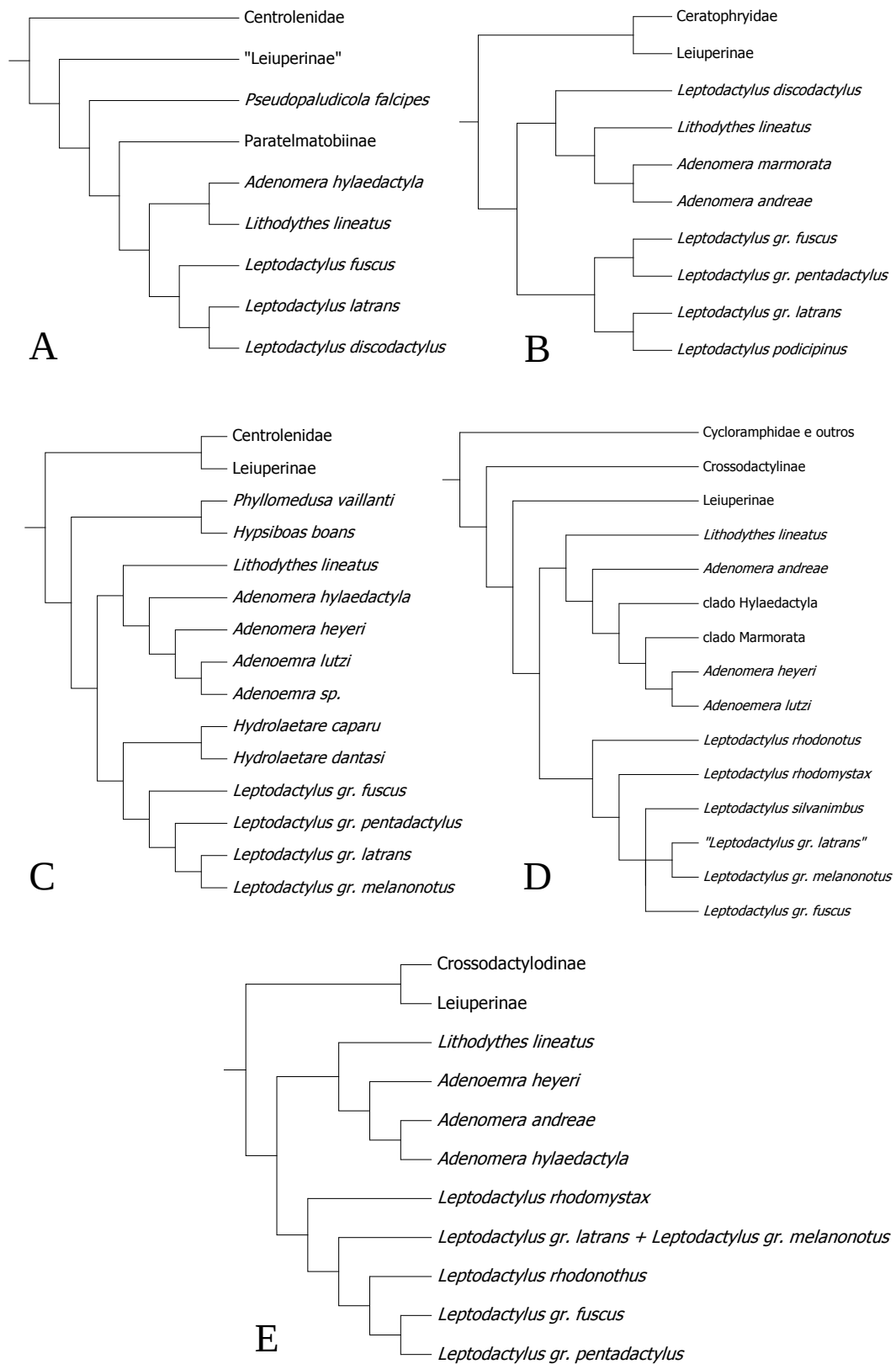


Figura 1. Hipóteses flogenéticas simplificadas envolvendo a família Leptodactylidae de **A** – Frost *et al.* (2006); **B** – Ponssa (2008); **C** – De Sá *et al.* (2014); **D** – Fouquet *et al.* (2013); **E** – Pyron e Wiens (2011).

Apesar de algumas espécies terem sido descritas como *Adenomera* entre 2006 e 2014 (e.g., *Adenomera engelsi* Kwet, Steiner e Zillikens, 2009), o gênero somente foi retirado da sinonímia de *Lithodythes* e revalidado de maneira formal e inequívoca por De Sá *et al.* (2014). A revalidação do gênero foi feita com base em características da história natural do grupo, devido à presença de um estágio larval endotrófico em algumas espécies do gênero, distinto de todas as demais espécies do gênero *Leptodactylus* (De Sá *et al.*, 2014). Para revalidar o gênero *Adenomera*, os autores tiveram necessariamente que retirar o gênero *Lithodythes* da sinonímia de *Leptodactylus*. A composição atual da subfamília Leptodactylinae inclui os gêneros *Adenomera*, *Hydrolaetare*, *Leptodactylus* e *Lithodythes*.

FONTES DE EVIDÊNCIA

Como visto acima, a maior parte do que sabemos hoje a respeito dos relacionamentos de *Adenomera* é basicamente proveniente de estudos primariamente moleculares. Com a difusão da técnica de PCR e sequenciamento Sanger nos últimos anos (Sanger *et al.*, 1977; Mullis, 1990), estudos envolvendo sequências de DNA têm sido cada vez mais comuns dentro da sistemática filogenética (e.g., Frost, 2006; Fouquet *et al.*, 2007; Pyron e Wiens, 2011). A possibilidade de grande quantidade de caracteres gerados e de terminais amostrados em pouco tempo faz com que o uso de sequências de DNA seja de grande praticidade em análises filogenéticas. Já estudos envolvendo caracteres fenotípicos demandam muito mais tempo para levantar uma quantidade bem menor de caracteres. Entretanto, a importância do uso de dados fenotípicos em estudos cladísticos tem sido reconhecida. Como exemplo, Brodie III (2011) disse que:

“Biólogos evolucionistas possuem uma espécie de máquina do tempo na forma de filogenias e reconstruções de caracteres. Árvores

filogenéticas refletem o relacionamento entre espécies e populações do presente baseados em quão similares eles são em caracteres genéticos e fenotípicos. Mapeando as distribuições de caracteres nessas árvores e assumindo algumas premissas de como a evolução ocorre, é fácil perceber qual o provável estado de caráter apresentado pelo ancestral de uma espécie ou de um grupo de espécies”.

Ademais, a adição, mesmo em pequena quantidade, de caracteres fenotípicos (comparativamente à matriz de DNA), mesmo que para um subconjunto dos terminais usados numa análise, pode influenciar na otimização dos caracteres moleculares (ver comentários em De Sá *et al.*, 2014). Até hoje, nenhum estudo explorou dados fenotípicos de *Adenomera* através de uma abordagem de evidência total. O mais próximo que há é o trabalho feito por De Sá *et al.* (2014) que foca um grupo bastante próximo evolutivamente de *Adenomera* (i.e., *Leptodactylus*).

Mesmo nos estudos filogenéticos de cunho morfológico que levantaram dados de *Adenomera*, o gênero foi usado até hoje, no máximo, como outgroup. Como exemplo, numa análise filogenética do grupo de *Leptodactylus fuscus*, Ponssa (2008) usou como fonte de evidência a morfologia externa e a osteologia. Ponssa (2008) incluiu na sua análise as espécies *Adenomera andreae*, *A. hylaedactyla*, *Leptodactylus discodactylus* e *Lithodythys lineatus* para determinar caracteres ancestrais do grupo foco (*Leptodactylus* gr. *fuscus*) daquele estudo. Nenhuma sinapomorfia não homoplástica foi encontrada para o clado do gênero *Adenomera*. As sinapomorfias homoplásticas encontradas para o clado *Adenomera* (nó 35) foram: caráter 8 estado 0 (dorso sem tubérculos brancos) e caráter 48 estado 2 (margem posterior dos frontoparietais convexa). Os mesmos estados de caráter foram

encontrados para *L. labrosus*, nó 9 (caráter 8, estado 0), e para outro subgrupo do grupo *L. fuscus*, nó 6 (caráter 48, estado 2).

Outra fonte fenotípica de evidência interessante é a bioacústica. Usualmente, os cantos de anúncio dos anuros são considerados úteis para distinguir espécies morfologicamente semelhantes (Bickford *et al.*, 2007; Vences & Wake, 2007; Padial & De la Riva, 2009), mas não carregam muita informação filogenética (Cannatella *et al.*, 1998). É esperado que os cantos de anúncio em anuros apresentem uma divergência rápida no curso evolutivo entre espécies irmãs (Gerhardt, 1994; Cocroft & Ryan, 1995; Ryan & Kime, 2003). A evolução rápida faz com que traços de caracteres em comum de terminais menos relacionados sejam perdidos e que o surgimento de estados de caracteres derivados ocorra em ritmo mais acelerado, o que faz com que linhagens distantes apresentem convergência evolutiva sob pressões seletivas similares (Ryan *et al.*, 1990). A abordagem bioacústica tem sido amplamente empregada nos estudos taxonômicos do gênero *Adenomera* e tem se mostrado útil na identificação de identidades ao nível específico, quando padrões e diagnoses morfológicas são inexistentes, insuficientes ou complexos (Angulo e Cocroft, 2003; Kwet, 2009; Carvalho e Giaretta, 2014).

No entanto, poucos estudos tentaram, de fato, detectar sinal filogenético em cantos de anuros (e.g., Cocroft & Ryan, 1995; Cannatella *et al.*, 1998; Robillard *et al.*, 2006; Wollenberg *et al.*, 2007; Goicoechea *et al.*, 2010). Ademais, esses estudos mostraram resultados divergentes. Cannatella *et al.* (1998) concluíram que os cantos de anúncio das espécies de *Egystomops* (grupo *Physalaemus pustulosus*) não contém informação filogenética devido à plasticidade resultante da forte pressão da seleção sexual sobre esses. Por outro lado, Robillard *et al.* (2006) e Wollenberg *et al.* (2007) encontraram topologias acústicas similares às moleculares, indicando a existência de informação filogenética em

sinais acústicos. A falta de congruência entre hipóteses filogenéticas acústicas e hipóteses com outras fontes de evidência se deve provavelmente à forma na qual os caracteres foram codificados e analisados (Goicoechea *et al.*, 2010).

Outros autores defendem que a utilização de caracteres comportamentais pode ser utilizada em análises filogenéticas como qualquer outro caráter, morfológico ou molecular, com as mesmas exigências, limitações e “armadilhas”. (Wenzel, 1992). No entanto, a aplicação do conceito de homologia em caracteres comportamentais requer uma análise cuidadosa das características observadas (Rendall e Fiore, 2007). Sinais acústicos não são estritamente caracteres comportamentais, mas constituem o produto final do comportamento de canto, sendo necessário relacionar o produto final com o comportamento e as estruturas envolvidas na sua produção para assegurar que as características homólogas sejam comparáveis (Stuart e Currie, 2002).

Para que características bioacústicas sejam utilizadas em análises filogenéticas, o mecanismo de produção do som deve ser levado em consideração para se propor homologias (Robillard *et al.*, 2006). Na maioria das famílias de anuros o aparato acústico envolve as mesmas cartilagens, membranas e músculos, e a maior parte da variação encontrada se deve ao tamanho e forma de estruturas em comum (Trewavas, 1933; Schmid, 1973). Apesar da diversidade de cantos e da morfologia da laringe, o mecanismo básico de produção de som é muito parecido entre anuros (Duellman e Trueb, 1986). Exceções feitas à família Pipidae, que apresenta um mecanismo de produção de som percussivo (Yagger, 1992), à espécie *Hydrolaetare dantasi* que produz um componente acústico do canto de forma percursiva (Souza e Haddad, 2003) e das famílias Bombinatoridae e Discoglossidae que produzem sons por inspiração (Glaw & Vences, 1991), a produção de som em anuros é realizada através da

movimentação de um bloco de ar dos pulmões através da glote representando um mecanismo modificado de expiração (Duellman e Trueb, 1986). Robillard *et al.* (2006) propuseram uma forma mecânica de codificar caracteres acústicos, onde do ponto de vista comportamental (e mecânico), cada emissão de som está relacionado a um ciclo de expiração-inspiração. Ainda, segundo o autor, o conceito de “nota”, que se refere ao som produzido durante um único ciclo de fluxo de ar (McLister *et al.*, 1995), é uma unidade acústica apropriada para comparar a produção de sons entre anuros.

OBJETIVOS

Até o momento, nenhuma análise filogenética envolvendo caracteres fenotípicos foi conduzida para uma amostragem significativa de terminais do gênero *Adenomera*. Assim, nosso objetivo é testar hipóteses de homologias, buscando levantar possíveis sinapomorfias e entender padrões de evolução fenotípica para o gênero *Adenomera* e para os grupos a ele relacionados.

MATERIAIS E MÉTODOS

AMOSTRAGEM DOS GRUPOS INTERNO E EXTERNO

Estabelecemos as espécies delimitadas no capítulo anterior e as demais espécies do gênero *Adenomera* (sensu Fouquet *et al.* 2014) como nosso grupo interno. Pela distribuição geográfica, *A. sp. H* (Fouquet *et al.*, 2014) pode corresponder tanto a *A. cotuba* quanto a *A. juikitam*, pois estas ocorrem em sintopia (Carvalho e Giaretta, 2013a). Assumiremos que *A.*

sp. H corresponde à *A. cotuba* arbitrariamente, pois ambas as espécies (*A. cotuba* e *A. juikitam*) apresentam cantos de anúncio e morfologia semelhantes que, dada as definições dos caracteres utilizados, não afetarão na análise (i.e., são codificadas igualmente). No entanto, vale ressaltar que é necessário averiguar a qual espécie nominal *A. sp. H* corresponde.

Os terminais do grupo externo foram escolhidos de modo a testar a polaridade dos estados de caracteres. Uma vez que o posicionamento filogenético familiar do gênero *Adenomera* não é controverso, escolhemos como nosso grupo externo, táxons recuperados como sendo filogeneticamente próximos ao grupo interno (Pyron e Wiens, 2011; De Sá *et al.*, 2014; Fouquet *et al.*, 2014).

Incluimos no outgroup um representante de *Lithodytes lineatus*, 15 terminais representando espécies do gênero *Leptodactylus*, sendo: seis representantes do grupo *L. fuscus* (*L. albilabris*, *L. bufonius*, *L. elenae*, *L. fuscus*, *L. mystaceus* e *L. mystacinus*), dois representantes do grupo *L. latrans* (*L. insularum* e *L. latrans*), dois representantes do grupo *L. melanonotus* (*L. podicipinus* e *L. melanonotus*) e cinco representantes do grupo de *L. pentadactylus* (*L. fallax*, *L. knudseni*, *L. labyrinthicus*, *L. pentadactylus* e *L. rhodonotus*). Além disso, incluimos também, um representante de *Hydrolaetare dantasi*, um representante de cada gênero da subfamília Leiuperinae (*Engystomops pustulosus*, *Physalameus feioi*, *Pleurodema briboni* e *Pseudopaludicola falcipes*) e um representante de cada gênero da subfamília Paratelmatoquinae exceto por *Scythrops* (*Crossodactylodes itambe*, *Paratelmatoquius gaigeae* e *Rupirana cardosoi*). A análise foi enraizada em um exemplar da família Centrolenidae (*Vitreorana uranoscopa*). As sequências obtidas do grupo externo e das demais espécies do gênero *Adenomera* foram baixadas do GenBank e estão listadas na

Tabela 1. Os exemplares examinados e abreviações das instituições estão listados no Apêndice 4.

AMOSTRAGEM DE CARACTERES

A extração do DNA (mitocondrial e nuclear) foi feita a partir de tecido muscular dos indivíduos utilizando o kit DNeasy (Quiagen) e via extração salina adaptada de Maniatis *et al.* (1982). A amplificação do DNA foi realizada utilizando Fermentas Master Mix e conduzida em termocicladores Axygen Maxygene. Para amplificação dos fragmentos de genes, conduzimos distintos protocolos que incluíam número de ciclos, temperatura e duração de cada fase da PCR (“polimerase chain reaction”) de acordo com cada par de primers. Para a maioria dos fragmentos, o programa padrão de reação de PCR iniciou com a etapa de desnaturação de 2 minutos a 94 °C, seguidos de 35 a 40 ciclos de anelamento (94 °C por 30 segundos, 48–56 °C por 30 segundos, 72 °C por 2 minutos) e a etapa final de extensão a 72 °C por 10 minutos. Produtos de PCR não purificados foram então enviados para Macrogen Inc. (Coreia do Sul) onde se realizaram as reações de purificação e de sequenciamento num sequenciador ABI 3730XL.

Tabela1. Números de acessos do GeneBank por terminal. Células em branco significam que não há disponibilidade de sequência no GeneBank do fragmentos para determinado terminal.

Espécie	COI	CYTB	12S	16S	RAG	POMC	TYR	RHOD
<i>Adenomera andreae</i>	KC520689	JQ321766	KC520683	KC520683	KC604015 + KC604037	KC604061	KC520698	KC604094
<i>Adenomera coca</i>	KF674661	KF674970			KF674343	KF674029		
<i>Adenomera dyptix</i>	KC60399	KC603966	KC603938	KC603938	KC604016 + KC604038	KC604062	KC604086	KC604098
<i>Adenomera heyeri</i>	KC604000	KC603972	KC603947	KC603948	KC604022 + KC604044	KC604068	JN691509	KC604096
<i>Adenomera hylaedactyla</i>	KC603995	KC603967	KC603939	KC603939	KC604017 + KC604039	KC604063	JN691529	KC604095
<i>Adenomera lutzi</i>	KC604002	KC603974	KC603951	KC603952	KC604024 + KC604046	KC604070	KC604093	KC604103
<i>Adenomera martinezi</i>	KC603996	KC603968	KC603941	KC603942	KC604018 + KC604040	KC604064	KC604088	KC604097
<i>Crossodactylodes</i> sp.	KC603985	KC603963	KC603957	KC603958	KC604011 + KC604033	KC604048	KC604077	KC604105
<i>Engystomops pustulosus</i>	FJ766700		DQ337242	DQ337248				
<i>Hyalinobatrachium muranoscopa</i>		JX298412	AY843595*	AY843595*				AY844567
<i>Hydrolaetare cf. caparu</i>	KC603988	KC603975	KC603953	KC603954	KC604031 + KC604035	KC604050	KC604081	KC604107
<i>Leptodactylus albilabris</i>		EF091406	EF091411	EF091414				
<i>Leptodactylus bufonius</i>			AY943220	AY943233				
<i>Leptodactylus elenae</i>		KF548077	AY948955	AY948959				KF613586
<i>Leptodactylus fallax</i>		EF091408	EF091412	EF091415				
<i>Leptodactylus fuscus</i>		AY341741	DQ283404	DQ283404	AY323770		AY341760	DQ284015
<i>Leptodactylus insularum</i>			AY943222	AY943235				
<i>Leptodactylus knudseni</i>	KM024383	JX298414	JX298144	AY947863		JX298144		
<i>Leptodactylus labyrinthicus</i>			AY947875	AY947861				
<i>Leptodactylus latrans</i>	KC603989	AY843934	AY843688	AY843688	KC604026 + AY844470	KC604055	KC604082	AY844681
<i>Leptodactylus melanonotus</i>		JX298414	AY943224	AY943237	AY364224		DQ347193	AY364405
<i>Leptodactylus mystaceus</i>	KC603992	KC603979	AY905717	AY911286	KC604029 + KC604036	KC604058	JN691817	KC604108
<i>Leptodactylus mystacinus</i>		KF548067	AY905716	AY911285	AY323771			KF613593
<i>Leptodactylus pentadactylus</i>			AY326017	AY326017				
<i>Leptodactylus podicipinus</i>		KF548073	EF613172	EF632048				KF613582
<i>Leptodactylus rhodomystax</i>	KC603993	KC603980	AY947869	AY947855	KC604030	KC604059	KC604085	KC604110
<i>Paratelmatobius gaigae</i>			EU224397	EU224397				
<i>Pleurodema bibroni</i>		JQ937125	JQ937188	JQ937188				
<i>Pseudopaludicola falcipes</i>	KC520684	KC520693	AY843741	AY843741	AY844507	KC604051		AY844728
<i>Rupirana cardosoi</i>	KC603987	KC603964	KC603955	KC603956	KC604012 + KC604034	KC604049	KC604078	KC604106

Utilizamos o programa Sequencer 3.0 (Gene Codes, Ann Arbor, MI, USA) para visualização dos cromatogramas, emparelhamento das fitas 3'→5' com 5'→3', leitura e edição das sequências. Para checar possíveis contaminações utilizamos o recurso do “Basic local alignment search tool” – BLAST (ALTSCHUL *et al.*, 1997). Alinhamos as sequências utilizando o algoritmo MUSCLE no programa MEGA6 (Tamura *et al.*, 2013), que foi corrigido de maneira visual posteriormente. Analisamos as sequências de DNA dos fragmentos mitocondriais: COI, CytB, 12S e 16S; e nucleares: RAG, POMC, TYR e RHOD. Os primers usados para cada fragmento seguem os mesmo utilizados por Fpquet *et al.* (2014).

Caracteres fenotípicos incluíram dados acústicos, comportamentais e de morfologia externa dos grupos interno e externo. Os caracteres fenotípicos foram codificados ou modificados de Robillard *et al.* (2006), Ponssa (2008) e De Sá *et al.* (2014). Adicionalmente, incluímos sete caracteres de morfologia (caracteres 15 – 19, 22 e 24) e um caráter acústico (caráter 5). Dados de morfologia externa de cada terminal foram obtidos de exemplares depositados em coleções (Apêndice 4). Já os dados comportamentais e bioacústicos foram obtidos a partir de excursões a campo.

Dados bioacústicos foram obtidos de gravações realizadas com um gravador digital Marantz Professional modelo PMD-660 com entrada de 44,1 kHz e um microfone unidirecional Sennheiser ME-66. Para as análises do canto, oscilogramas e espectogramas utilizamos o programa Raven Pro 64 1.4 nos seguintes parâmetros: Bandwidth = 248 Hz; FFT length = 256. Terminologia usada segue Duellman e Trueb (1994) e Robillard *et al.* (2006).

Para os terminais para os quais não pudemos ter acesso a dados fenotípicos através do exame de exemplares depositados em coleção (p. ex. dados acústicos, comportamentais),

levantamos dados a partir dos seguintes trabalhos: Almeida e Angulo (2002), Almeida e Angulo (2006), Angulo e Reichle (2008), Angulo e Ichochea (2010), Boistel *et al.* (2006), Brandão e Heyer (2005), Candioti (2005), Candioti *et al.* (2007), Carvalho e Giaretta (2013a), Carvalho e Giaretta (2013b), Cassini *et al.* (2010), De La Riva (1995), De Sá (2007), De Sá *et al.* (2014), Domenico *et al.* (2014), Eterovick e Sazima (2000), Oliveira Filho e Giaretta (2008), Oliveira Filho *et al.* (2005), Fouquet *et al.* (2011), Garcia *et al.* (2009), Giaretta e Magrini (2013), Giaretta *et al.* (2011), Gibson e Buley (2004), Heyer (1973), Heyer (1978), Heyer (1979), Heyer (1999), Heyer (2005), Heyer e Carvalho (2000), Heyer e De Sá (2011), Heyer e Giaretta (2009), Heyer e Reid (2003), Heyer *et al.* (2005), Jansen *et al.* (2007), Juncá e Lugli (2009), Kok *et al.* (2007), Kolenc *et al.* (2009), Lamar e Wild (1995), Magalhães *et al.* (2014), Menin e Rodrigues (2013), Marquez *et al.* (1995), Martins (1988), Menin *et al.* (2009), Menin *et al.* (2013), Miranda *et al.* (no prelo), Ponssa e Barrionuevo (2008), Prado e D'Heursel (2006), Prado *et al.* (2002), Prado *et al.* (2005); Prado *et al.* (2007), Rodrigues *et al.* (2007), Ron (2007), Ron (2010), Ryan e Rand (2001), Schluter *et al.* (2009), Shoemaker e McClanahan (1973), Souza e Haddad (2004) e Zaracho (2014).

Todos os caracteres foram considerados não ordenados e receberam o mesmo peso. Grant e Kluge (2003) defendem que as análises que utilizam pesagem igual maximizam o poder exploratório do teste pelo fato de minimizar os eventos de transformações formulados para os caracteres e táxons terminais. Os caracteres multiestado foram codificados de acordo com Hawkins *et al.* (1997) e Hawkins (2000), trabalhos que postulam que a ausência de uma estrutura não precisa ser necessariamente tratada como um estado hierarquicamente equivalente às diversas condições desta estrutura. Ou seja, foram considerados multiestados os caracteres cujos diferentes estados são variações conhecidas de uma mesma estrutura ou condição.

Seguindo a codificação de Robillard *et al.* (2006), os dados bioacústicos foram tratados numa abordagem mecanística e por isso usamos notas como unidades comparáveis, i. e., a quantidade de som produzido durante um ciclo respiratório (McLister *et al.* 1995). Essa definição de nota é uma abordagem mais lógica para codificar caracteres acústicos do que abordagens tradicionais, uma vez que estabelece um embasamento fisiológico definindo a unidade “nota” e assim, facilita interpretações sobre homologias primárias (Orrico *et al.*, 2009). Esse método de codificação apresentou melhores resultados do que a codificação tradicional de dados acústicos por ser consistente com análises envolvendo outras fontes de evidência (e.g., DNA), recuperando a mesma topologia da análise molecular (Robillard *et al.*, 2006).

Pudemos observar o comportamento de emissão de coxos das espécies do gênero *Adenomera* do clado Mata Atlântica (exceto para a espécie candidata *A. sp. N*). Verificamos a contração dos músculos do tronco e expansão do saco vocal em cada ciclo de fluxo de ar que representa a produção de uma nota. Com base nisso, inferimos sobre o mecanismo de produção da nota nas demais espécies do gênero *Adenomera* (e.g., *A. heyeri*, *A. lutzi* e *A. andreae*). Da mesma forma, pela nossa experiência em campo com a família Leptodactylidae, pudemos inferir o mecanismo de produção de notas das espécies do gênero *Leptodactylus*, *Physalaemus*, *Pleurodema* e *Pseudopaludicola*. Para a espécie *Engystomops pustulosus* codificamos os estados de caracteres da nota “wine”, uma vez que a emissão da nota “chuck” é facultativa (Tárano, 2010). Não pudemos concluir sobre o mecanismo de produção de nota nas espécies amostradas dos gêneros *Paratelmatobius* e *Rupirana*, pois não é possível estabelecer sem dúvidas a homologia entre os conceitos de “nota” e “pulsos” usados pelos autores (Juncá e Lugli, 2009; Jansen *et al.*, 2007, Giaretta e Magrini *et al.*, 2013).

Algumas das “armadilhas” do uso de caracteres baseados em bioacústica (mas não somente) relacionam-se à sua natureza contínua. Goloboff *et al.* (2006) mostraram que caracteres contínuos, quando tratados como tal, podem conter informações filogenéticas importantes. Estas informações podem ser interpretadas erroneamente quando os caracteres contínuos são discretizados (de forma aleatória ou não), pois este método pode atribuir uma amplitude de valores aos estados de caráter que não diferem significativamente entre si ou mesmo atribuir um mesmo estado a caracteres terminais que são significativamente diferentes (Farris, 1990).

Utilizamos a abordagem de análise de caracteres contínuos, conforme tratados o programa TNT, para todos os caracteres de natureza contínua encontrados no presente estudo. Quando possível, obtivemos os limites de valores de cada terminal através da medida da média (para duração da nota) ou mediana (para frequência dominante) $\pm$ desvio padrão. Para a construção da hipótese filogenética utilizando caracteres contínuos, o método considera que terminais relacionados que apresentam sobreposição na amplitude de valores produzem contagem de passos igual a zero e não são, portanto, considerados como estatisticamente diferentes (Goloboff *et al.*, 2006).

ANÁLISE FILOGENÉTICA

Conduzimos uma análise de evidência total (Kluge, 1989) utilizando o critério da máxima parcimônia para encontrar as melhores árvores. A matriz foi editada com o auxílio do programa Mesquite 2.75 (Maddison e Maddison, 2011) e as lacunas representadas por “?” e “-” significam, respectivamente, estados desconhecidos e estados não aplicáveis ao terminal em questão. Uma matriz de dados concatenados (dados fenotípicos contínuos, dados fenotípicos discretos e dados molecular) foi produzida utilizando o programa TNT (Goloboff

et al., 2008). Gaps foram tratados como dados faltantes. O método utilizado para a busca de árvores mais parcimoniosas foi New Technology, com nível de busca ajustado para 50 e algoritmos “Sectorial Search”, “Ratched” e “Tree-fusing” (Goloboff, 1999) nas definições default. As buscas cessaram quando o comprimento mínimo da árvore foi encontrado 15 vezes e consenso estrito foi calculado. O suporte foi calculado através de reamostragem por Jackknife (veja Farris *et al.*, 1996). Produzimos 1000 pseudo-réplicas a partir da árvore consenso estrito usando os mesmos parâmetros utilizados anteriormente através do New Technology para busca de árvores mais parcimoniosas.

Para otimização dos caracteres fenotípicos (discretos e contínuos) e reconstrução do caráter ancestral, o algoritmo usado pelo programa TNT para passadas para baixo é o de Farris (1970) e para as passadas para cima é o de Goloboff (1993). Por considerar arbitrária a escolha entre os métodos de otimização acelerado ou atrasado, os estados de transformações foram considerados sinapomórficos apenas quando não ambíguos. A lista de sinapomorfias também foi gerada através do programa TNT (Goloboff *et al.*, 2008) e editada no programa Winclada 1.00.08 (Nixon, 1999).

RESULTADOS

CARACTERES FENOTÍPICOS

Produzimos uma matriz de 30 caracteres fenotípicos (Tabela 2). Apresentamos a definição de cada caráter fenotípico usado na análise filogenética seguido do seu uso em literatura (quando for o caso).

Caracteres discretos – Bioacústica

Caráter 1. *Estrutura mecânica do canto*

Caráter M1 de Robillard *et al.* (2006).

O ciclo de fluxo de ar, para dentro e para fora através da laringe entre os pulmões e o saco vocal é um importante componente mecânico conduzido diretamente por atividade muscular (Martin e Gans, 1972; Sarbadhikary e Marsh, 1994). McLister (1995) define como nota a unidade de som produzida num único ciclo mecânico de fluxo de ar, podendo apresentar um ou mais pulsos sendo “nota” a unidade de som produzida num evento de fluxo de ar dos pulmões até o saco vocal. O número de notas por canto pode ser inferido observando o saco vocal de machos em atividade de vocalização (McLister, 1995).

0: canto composto por uma única nota

1: canto composto por multinotas

Caráter 2. *Rápida modulação de amplitude (pulsos) na nota.*

Caráter M8 de Robillard *et al.* (2006).

A vibração das cartilagens aritenóides permite a abertura e fechamento da *glottis* que impede momentaneamente o fluxo de ar dos pulmões para a cavidade bucal. Uma vez que o

fluxo de ar é o que “ativa” as cordas vocais, sua vibração também é alterada toda vez que a *glottis* é modificada. O padrão temporal de abertura e fechamento da *glottis* altera a vibração das cordas vocais fazendo com que as amplitudes de vibração das cordas vocais variem. Assim, a vibração das cartilagens aritenóides modula a amplitude de vibração das cordas vocais, causando a modulação de amplitude da nota (Martin, 1972). Os pulsos são caracterizados pela rápida modulação de amplitude na nota (Robillard *et al.*, 2006).

0: rápida modulação de amplitude na nota ausente; canto não-pulsado

1: rápida modulação de amplitude na nota presente; canto pulsado

Caráter 3. *Distribuição dos pulsos na nota*

Caráter M9 de Robillard *et al.* (2006).

0: homogênea ao longo da nota

1: limitada ao final da nota

Caráter 4. *Modulação de frequência da nota*

Erdtmann e Amézquita (2009) utilizaram este caráter na sua análise de inferência filogenética; porém, os autores utilizaram o método de codificação por gap após análise quantitativa dos dados. A modulação de frequência pode ser definida como a variação no valor da frequência dominante na nota.

Codificamos este caráter em dois estados: ausente (estado 0) quando a diferença da frequência dominante do final e do início da nota foi menor do que 50 Hz; e presente (estado 1) quando a diferença da frequência dominante do final e do início da nota foi maior do que 50 Hz. Este valor foi estipulado após análise acústica de todas as populações de *Adenomera* do clado Mata Atlântica, pois todas as populações onde a maioria dos cantos não apresentavam modulação de frequência (=0 Hz), poucas populações apresentaram alguns

indivíduos dos quais alguns cantos apresentaram uma variação da frequência dominante do final e do início do canto de até 50 Hz. Por isso Uma variação de até 50 Hz foi considerada como um artefato de leitura do programa da produção da nota individual.

A modulação de frequência das vocalizações no gênero *Leptodactylus* (*L. mystaceus*, *L. bufonius*, *L. latinasus* e *L. fuscus*) é produzida através da vibração das cordas vocais sem que ocorra a vibração das cartilagens aritenóides (Martin, 1972; ver também caráter 27, “frequência dominante”). Experimentalmente, quando o autor expôs o modelo biológico à frequência periódica, não conseguiu reproduzir a modulação de frequência apresentada por machos em atividade de vocalização gravada em campo. Por isso, o autor sugeriu que a contração de músculos laringofaríngeais é necessária para trazer as cordas vocais no posicionamento exato e sob tensão correta para a produção do som típico de cada espécie.

0: modulação da nota ausente

1: modulação da nota presente

Caráter 5. *Tipo de modulação de frequência*

Quando existe diferença nos valores de frequência dominante ao longo da nota é dito haver modulação de frequência. Se a frequência dominante ao final da nota é maior do que a frequência dominante no início da nota a modulação de frequência da nota é ascendente. Do contrário, a modulação de frequência da nota é descendente.

0: modulação de frequência da nota ascendente

1: modulação de frequência da nota descendente

Caráter 6. *Canto agressivo*

Modificado do caractere 132 de De Sá *et al.* (2014). O canto agressivo pode ser emitido em interações territoriais entre machos (Kokubum *et al.*, 2005).

0: ausente

1: presente

Caráter 7. Sítio de vocalização

Modificado do caráter 133 de De Sá *et al.* (2014). Tipo de ambiente utilizado pelo macho ao emitir o canto de anúncio. De Sá *et al.* (2014) consideraram o estado 4 deste caráter como: vocalização em depressão do solo (natural ou construída), ao passo que nós definimos este estado apenas as depressões naturais aproveitadas pelos machos para vocalizar. Adicionalmente, o estado 5, vocalização em câmaras subterrâneas (De Sá *et al.*, 2014) foi definido aqui por nós como vocalização em depressões construídas e/ou câmara subterrâneas. Modificamos os estados 4 e 5 de De Sá *et al.*, 2014 pois consideramos que os estados devem refletir a capacidade de construção dado que ambos os estados lidam com vocalização no mesmo substrato (solo)

0: água

1: rochas

2: terreno aberto

3: solo, no meio do folhiço

4: depressão natural

5: depressão construída (buracos ou câmara subterrânea)

6: em galhos ou troncos de árvores

Caráter 8. Sítio de oviposição

Modificado do caráter 135 de De Sá *et al.* (2014), que trataram os nossos caracteres 8, 9 e 10 como um único caráter aditivo. Entretanto, preferimos estudar as homologias separadamente.

0: oviposição em ambiente aquático

1: oviposição em ambiente terrestre

Caráter 9. *Tipo de ambiente aquático para oviposição*

Modificado do caráter 135 de De Sá *et al.* (2014), que trataram os nossos caracteres 8, 9 e 10 como um único caráter aditivo.

0: oviposição em ambiente lótico (e.g. rios)

1: oviposição em ambiente lêntico (e.g. poças)

Caráter 10. *Tipo de ambiente terrestre para oviposição*

Modificado do caráter 135 de De Sá *et al.* (2014), que trataram os nossos caracteres 8, 9 e 10 como um único caráter aditivo.

0: oviposição em solo

1: oviposição em depressões naturais do solo

2: oviposição em depressões construídas no solo

3: oviposição em câmaras de incubação

Caráter 11. *Pigmentação dos ovos*

Caráter 13 de Heyer (1998); caráter 68 de Grant *et al.* (2006); caráter 143 De Sá *et al.* (2014).

A pigmentação de oócitos maduros (ovos) foi sugerida como uma proteção aos embriões expostos à radiação solar (Duellman e Trueb, 1986; Wells, 2007). Contudo, essa explicação adaptativa não parece ser muito clara para muitos grupos. Por exemplo, algumas espécies de dendrobatídeos apresentam desova protegida da luz solar e ainda assim, apresentam oócitos pigmentados (Myers e Daly, 1979; Grant *et al.*, 2006). Adicionalmente, algumas espécies do gênero *Hypsiboas* apresentam oócitos maduros não pigmentados (Duellman, 1997; Faivovich *et al.*, 2005; 2006; Nali *et al.*, 2014), embora o gênero apresente tipicamente oócitos pigmentados. No entanto, espécies de *Hypsiboas* que apresentam ovos despigmentados podem depositar seus ovos em locais protegidos da luz solar (e.g., *H. heilprini*; Nali *et al.*, 2014) ou não (e.g. *H. lemai*; Duellman, 1997).

Na subfamília Leptodactylinae, espécies do grupo de *L. latrans* e *L. melanonotus*, que apresentam modos reprodutivos mais associados ao ambiente aquático, apresentam ovos pigmentados (Heyer, 1998). O grupo de espécies de *L. fuscus* e as espécies do gênero *Adenomera* depositam seus ovos em ambientes protegidos da luz solar e apresentam ovos despigmentados (Cassini obs. pess.; Heyer, 1998; Giaretta e Kokubum, 2004; Kokubum e Giaretta, 2005). Já o grupo de espécies de *L. pentadactylus*, apesar de apresentar modos reprodutivos mais independentes do meio aquático, apresentam ovos pigmentados (Muedeking e Heyer, 1976; Heyer, 1998; Prado *et al.*, 2005; Zina e Haddad, 2005).

0: não pigmentados, amarelos

1: pigmentados, cinza ou preto

Caráter 12. *Produção do ninho de espuma pelos pais*

Os aspectos comportamentais envolvidos na produção do ninho de espuma nos vários grupos taxonômicos onde este está presente é relativamente consistente entre famílias

distintas. Relatos sobre a mecânica da produção do ninho de espuma indicam a liberação pela cloaca da fêmea de uma substância mucosa e translúcida antes ou concomitantemente à liberação de oócitos maduros. Esta substância mucosa é batida até virar uma espuma, que abrigará oócitos maduros fertilizados (ovos), formando então o ninho de espuma. O sexo responsável em bater a substância gelatinosa para produzir espuma e os membros (anteriores ou posteriores) usados na mecânica de produção da espuma varia entre os táxons (Hödl, 1990).

A produção do muco que será batido em espuma parece estar associada com uma porção mais desenvolvida dos ovidutos, mais especificamente dos *pars convoluta dilatata*, localizados anteriormente ao ovissaco, (ver Furness *et al.* 2010). Esta estrutura formada por tecido glandular foi chamada por alguns autores de “glândula de espuma” (Coe, 1974; Kabisch *et al.*, 1998) ou glândula de albumina (Alcaide *et al.*, 2009). O grau de desenvolvimento da *pars convoluta dilatata* tem sido relacionado ao tamanho corporal, ao tamanho da desova e ao local de deposição do ninho de espuma (Furness *et al.*, 2010).

Apesar de algumas espécies do gênero *Pleurodema* não apresentarem ninho de espuma, Faivovich *et al.* (2012) encontraram que a presença do ninho de espuma (estado 1) é pleisiomórfica dentro do gênero. Assim, apesar no nosso táxon representante do gênero *Pleurodema* (*P. bibroni*) não apresentar ninho de espuma, codificamos a presença do ninho de espuma (estado 1) para este terminal para que pudesse refletir a otimização encontrada por Faivovich *et al.* (2012).

0: ninho de espuma produzidos pelos pais ausente

1: ninho de espuma produzido pelos pais presente

Caráter 13. *Produção de ninho de espuma pelos girinos*

Caráter 4 de Giaretta *et al.* (2011).

O ninho de espuma pode ser inicialmente produzido pelos pais e posteriormente mantido pelos girinos por algumas espécies da subfamília Leptodactilinae (*sensu* Pyron e Wiens, 2011). A manutenção do ninho de espuma pelos girinos tem sido documentada por uma série de autores (e.g., Downie, 1989; Kokubum e Giaretta, 2005; Ponssa e Barrionuevo, 2008). Os girinos que apresentam a capacidade de manter o ninho de espuma apresentam duas regiões de células glandulares, uma na superfície ventral do velum e outra na região posterior do teto bucal (Giaretta *et al.*, 2010).

0: Produção de ninho de espuma pelos girinos ausente

1: Produção de ninho de espuma pelos girinos presente

Caráter 14. *Dieta dos girinos*

Caráter 144 de De Sá *et al.* (2014).

A maioria dos anuros apresenta fase larval exotrófica (estado 0), ou seja, o embrião é nutrido primeiramente pelo vitelo e posteriormente, como girino, busca alimento ativamente para completar o desenvolvimento (McDiarmid e Altig, 1999). Geralmente girinos exotróficos são aquáticos (Haddad e Prado, 2005) com algumas exceções (e.g., *L. fallax*; Gibson e Buley, 2004). Girinos endotróficos, por sua vez, obtêm energia para completar seu desenvolvimento larval inteiramente do vitelo em ambiente terrestre ou, menos comumente, em ambiente aquático (McDiarmid e Altig, 1999). Girinos endotróficos apresentam uma morfologia distinta de girinos exotróficos, como as ausências de espiráculo, de fileiras de dentes e de bico córneo (Vera Candiotti *et al.*, 2005; Vera Candiotti *et al.*, 2011).

Altig e Johnston (1989) definiram seis guildas de girinos endotróficos: (1) vivíparos, (2) ovovivíparos, (3) paravivíparos, (4) exovivíparos, (5) nidícolas e (6) desenvolvimento

direto. As guildas de girinos endotróficos mais comuns são as nidícolas e as que apresentam desenvolvimento direto, sendo a maior diversidade encontrada entre os nidícolas (McDiarmid e Altig, 1999). Ao contrário dos anuros que exibem desenvolvimento direto, os anuros com girinos endotróficos nidícolas apresentam fase larval natante. Apesar da variedade de guildas de girinos endotróficos presente entre os anuros, o estado de caráter 1 (girinos endotróficos) se refere apenas àqueles nidícolas, pois nossa amostragem não compreende outras guildas. *Adenomera* apresenta variação quanto a este caráter, com espécies exotróficas e endotróficas (de La Riva, 1995; Almeida e Angulo, 2002, Menin *et al.*, 2009; Carvalho e Giaretta, 2013; Menin e Rodrigues, 2013).

0: girinos exotróficos

1: girinos endotróficos

Caracteres discretos – Morfologia externa

Caracteres 15 – 19. Extremidade distal dos artelhos

Heyer (1973) descreveu a variação da expansão da ponta distal dos artelhos em quatro formas, onde todos os dedos parecem variar igualmente. No entanto, pela distribuição dos estados do caráter na nossa matriz, pudemos perceber que não há dependência lógica entre as expansões da região distal de cada artelho. Assim, pelo fato da expansão de cada artelho ser uma transformação independente, estas devem ser codificadas separadamente para a análise. Encontramos dois estados de caracteres discretos da porção distal de cada artelho (Figura 2): nenhuma expansão (estado 0) e expandido, onde a porção distal do artelho representa cerca de pelo menos 1,5 vezes o do diâmetro do artelho (estado 1). Estes estados foram estabelecidos visualmente e medidas não foram tomadas para delimitar precisamente cada estado. Este conjunto de caracteres não esteve relacionado ao dimorfismo sexual.

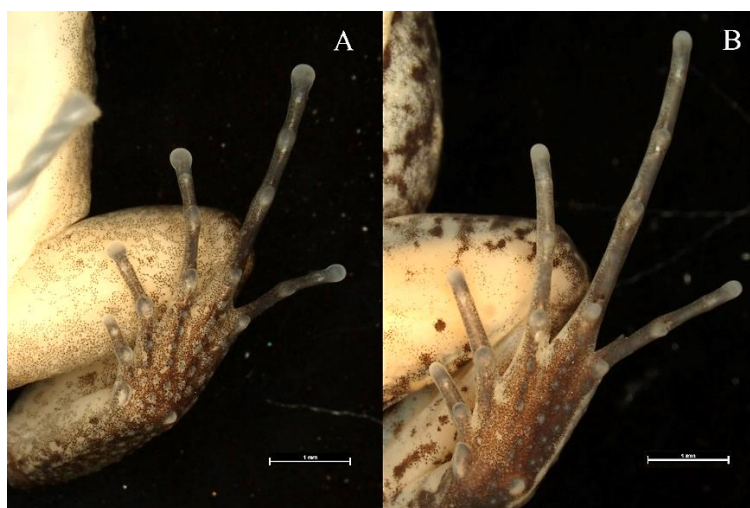


Figura 2. Caracteres 15 – 19: Expansão da extremidade distal dos artelhos. **A** – *Adenomera* sp. S, CFBH 35842 (artelho I com extremidade não expandida, estado 0; artelhos II, III, IV e V com extremidades expandidas, estado 1); **B** – *Adenomera bokermanni* UFMG 10289 (artelhos sem extremidades expandidas, estado 0).

Caráter 15. *Extremidade distal do artelho I*

0: não expandida

1: expandida

Caráter 16. *Extremidade distal do artelho II*

0: não expandida

1: expandida

Caráter 17. *Extremidade distal do artelho III*

0: não expandida

1: expandida

Caráter 18. *Extremidade distal do artelho IV*

0: não expandida

1: expandida

Caráter 19. *Extremidade distal do artelho V*

0: não expandida

1: expandida

Caráter 20. *Faixa preta supratimpânica*

Modificado do Caráter 12 de De Sá *et al.* (2014), que trataram os caracteres 20 e 21 como um único caráter aditivo.

0: ausente

1: presente

Caráter 21. *Extensão da faixa preta supratimpânica*

Modificado do Caráter 12 de De Sá *et al.* (2014), que trataram os caracteres 20 e 21 como um único caráter aditivo.

0: faixa se estende apenas acima do tímpano

1: faixa se estende acima do tímpano e continua posterolateralmente atrás do tímpano

Caráter 22. *Glândula ectopeitoral em machos*

Observamos a presença de concentração de ácidos ventro-lateralmente, próximo da região pós-humeral, apenas em machos adultos nas espécies do gênero *Adenomera* (Figuras 3 e 4). A localização da glândula não variou entre as espécies. Por outro lado, o grau de desenvolvimento variou entre as espécies, sendo mais desenvolvida em *A bokermanni* e

pouco desenvolvida em *A. thomei*, por exemplo. A presença da glândula em machos de *A. lutzi* e *A. heyeri* foi confirmada através da análise direta de espécimes pelo Dr. Phillippe Kok (comunicação pessoal). O grau de desenvolvimento da glândula variou entre machos de uma mesma espécie, estando ausente em juvenis. O estado do caráter foi codificado como presente (estado 1) na espécie quando ao menos um macho foi encontrado com a glândula ectopeitoral desenvolvida.

Lynch (1971) e Heyer (1975) descrevem uma série de glândulas em leptodactídeos e não mencionam nenhuma estrutura nesta região. Em regiões corporais semelhantes, a presença de uma glândula localizada na região pós-humeral é descrita para os gêneros *Oreobates* (Harvey e Sheehy, 2005; Padial, 2008; Pereyra *et al.*, 2014), *Leptobrachium* (Stuart *et al.*, 2006; Rao *et al.*, 2006; Hamidy e Masafumi, 2014), *Leptolalax* (Rowley *et al.*, 2010; Sung *et al.*, 2014). Nestes gêneros a glândula em questão está localizada atrás da inserção do braço e é chamada de infra-axilar. Em *Oreobates berdemenos*, Pereyra *et al.* (2014) observaram esta glândula em machos e fêmeas, muito embora em alguns indivíduos estava ausente (aproximadamente em 25% dos parátipos) ou fracamente visível (em 40% dos parátipos).

Diferente da glândula infra-axilar de *Oreobates* e *Leptolalax*, a glândula ectopeitoral foi encontrada apenas em machos das espécies do gênero *Adenomera*. Dada à natureza dimórfica da glândula apenas em *Adenomera* e o atual conhecimento do relacionamento filogenético de anuros, não consideramos as glândulas encontradas em *Adenomera* e *Oreobates* e *Leptolalax* como homólogas. A função desta glândula ainda é desconhecida, mas sua natureza dimórfica nos faz pensar se ela não desempenha alguma função reprodutiva no momento do amplexo axilar.

Codificamos este carácter como segue:

0: Glândula ausente

1: Glândula presente

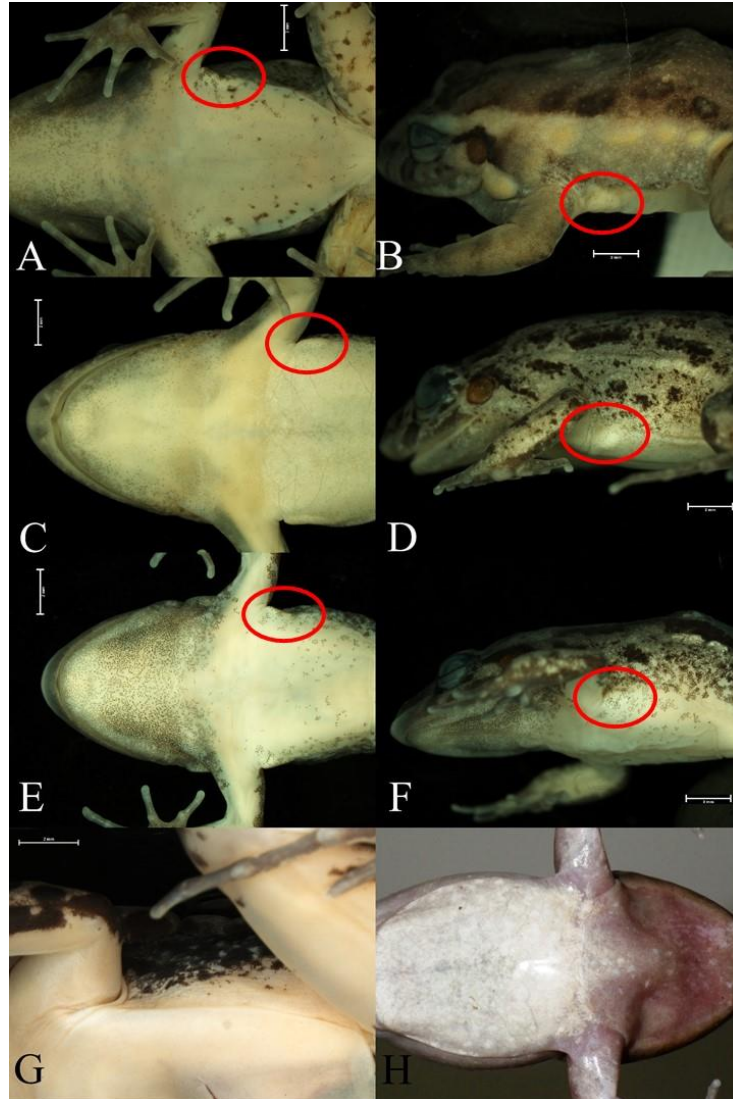


Figura 3. Caráter 22: Glândula ectopeitoral em machos. **A e B** – *Adenomera bokermanni* CFBH 23217 (estado 1); **C e D** – *Adenomera thomei* CFBH 34413 (estado 1); **E e F** – *Adenomera marmorata* CFBH 36001 (estado 1); **G** – *Leptodactylus latinasus* CFBH 36471 (estado 0); **H** – *Leptodactylus cupreus* CFBH 23632 (estado 0).

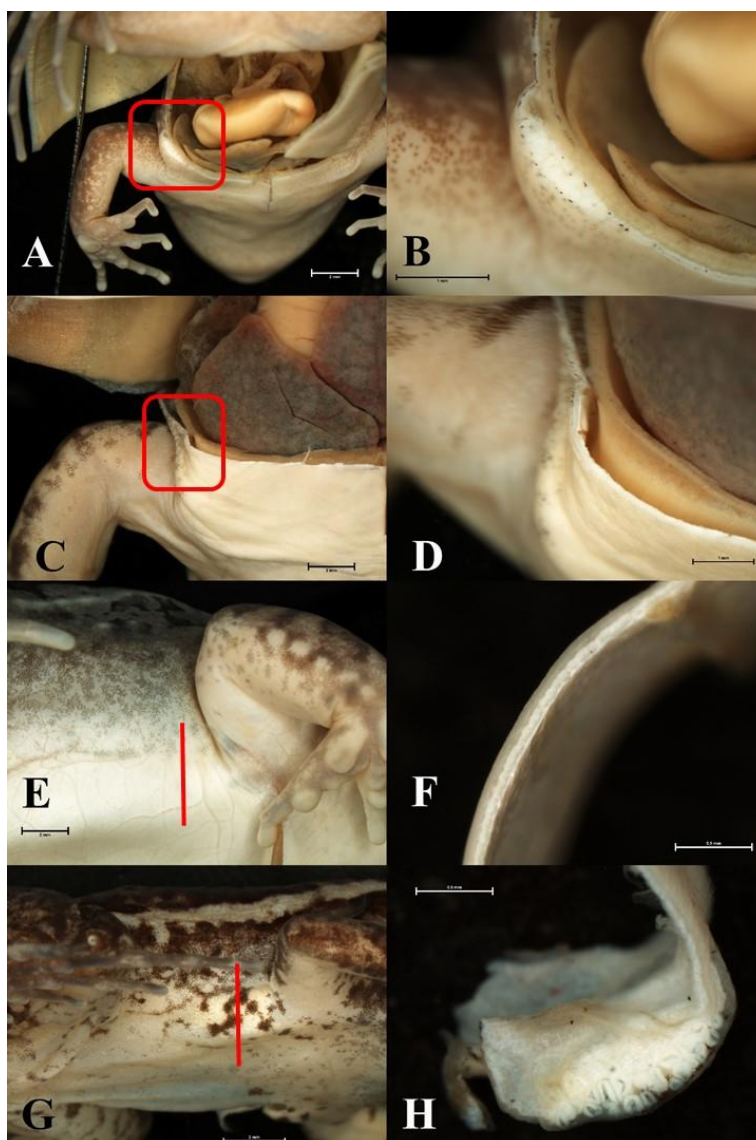


Figura 4. Caráter 22: Glândula ectopeitoral em machos. Cortes transversais das áreas indicadas pela seta. **A** – *Adenomera diptyx* CFBH 4326; **B** – *Adenomera diptyx* (detalhe de A); **C** – *Leptodactylus fuscus*, CFBH 37835; **D** – *Leptodactylus fuscus* (detalhe de C); **E** – *Leptodactylus fuscus*, CFBH 6437; **F** – *Leptodactylus fuscus* (corte transversal de E); **G** – *Adenomera* sp. O, CFBH 22324; **H** – *Adenomera* sp. O (corte transversal de G).

Carctere 23. *Excrecência nupcial do dedo II de machos*

Caráter 24 (Ponssa, 2008).

Apesar de se ser comum no outgroup amostrado, machos do gênero *Adenomera* não apresentam excrecências nupciais no dedo I.

0:ausente

1:presente

Carctere 24. *Projeções córneas na região medial dos dedos III e IV nos adultos*

Algumas espécies do gênero *Leptodactylus* apresentam a região medial (ou interna) dos dedos III e IV com uma fileira serrada, coberta por queratina (Figura 5). A presença desta estrutura já foi mencionada em *L. cupreus* (Cassini *et al.*, 2013; figura 5) e na descrição dos holótipos de *L. paraenses*, *L. peritoaktites*, *L. rhodomerus*, *L. savagei* e *L. turimiquensis* (Heyer, 2005). Não sabemos qual a função desta estrutura. Machos e fêmeas apresentam as projeções na mesma localização, embora sejam comumente mais desenvolvidas em machos.

As espécies do gênero *Adenomera* e algumas espécies do grupo de *L. fuscus* não apresentam tais projeções.

0: projeções córneas na região medial dos dedos III e IV ausentes.

1: projeções córneas na região medial dos dedos III e IV presentes.

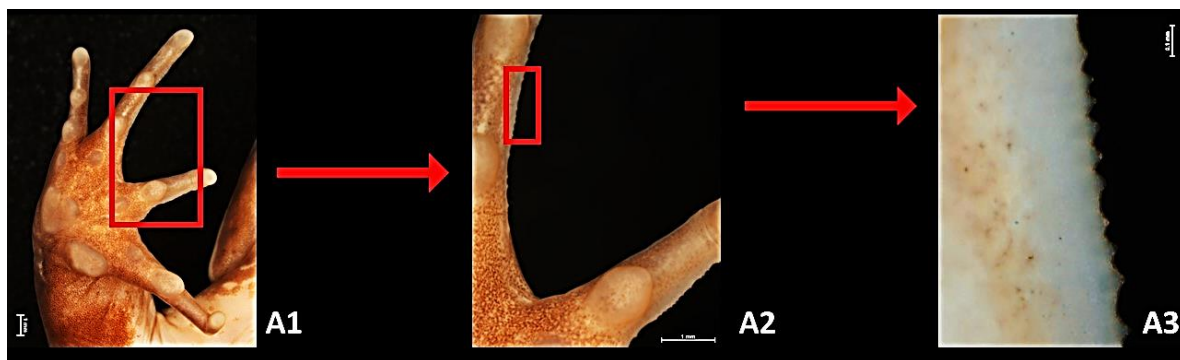


Figura 5. Presença de projeções córneas na região medial dos dedos III e IV nos adultos (Carctere 24, estado 1) em *Leptodactylus cupreus* (CFBH 26359, macho). **A1, A2 e A3** representam aumentos progressivos da região demarcada pelo quadrado vermelho.

Carctere 25. *Focinho espatulado em machos*

Modificado do caráter 34 de De Sá *et al.* (2014), que consideraram o caráter como aditivo. Os autores codificaram 3 estados para este caráter: ausente, presente apenas em machos e presente em machos e fêmeas. Neste trabalho codificamos este caráter em machos com focinho espatulado ausente (estado 0) ou presente (estado 1). Nenhuma fêmea do gênero *Adenomera* apresenta focinho espatulado.

O focinho pode ser espatulado devido à presença de uma calosidade na sua região mais anterior (De Sá *et al.*, 2014). Este caráter está associado à construção com o focinho da cavidade no solo para oviposição (Ponssa e Barrionuevo, 2012: fig. 2; Angulo and Icochea, 2010: fig. 8). É possível que os estados 4 e 5 do caráter 7 (sítio de vocalização em depressão natural ou, em depressão ou câmara subterrânea construídas, respectivamente) e o caráter 10 (tipo de ambiente terrestre para oviposição) possuam certo nível de dependência com este caráter. Contudo, mantivemos a codificação de De Sá *et al.* (2014) pelo fato de não possuímos dados de construção de depressões em solo ou câmaras subterrâneas para todos

os terminais da matriz. Desse modo poderemos verificar a posteriori as dependências destes caracteres.

0: Focinho espatulado em machos ausente

1: Focinho espatulado em machos presente

Caracteres contínuos – Bioacústica

Os caracteres a seguir (exceto o caráter 27) foram modificados de Robillard *et al.* (2006), que discretizaram estes caracteres de natureza contínua utilizando a codificação por gap. Os caracteres a seguir foram tratados como caráter contínuo seguindo Goloboff *et al.* (2006).

Caráter 26. *Número de notas por canto*

Modificado do caráter M2 de Robillard *et al.* (2006).

Caráter 27. *Frequência dominante (Hertz) da nota do canto de anúncio*

A frequência dominante é definida pelo valor de frequência na nota contendo a maior quantidade de energia. A frequência dominante é produzida em resposta a ressonância das frequências do som emitido e daquela produzida pelas cordas vocais. A faixa de frequência a ser amplificada é determinada pela quantidade de massa fibrosa existente nas cordas vocais (Martin, 1972; Gridi-Papp *et al.*, 2006) e varia de acordo com a pressão do fluxo de ar através da *glottis* (Martin, 1972). Este caráter tem sido pouco usado na literatura em análises filogenéticas e quando o é, autores optaram por convertê-lo em variável discreta através da codificação por gap, onde busca-se discretizar um dado contínuo através de amplitudes não sobrepostas dentro da amplitude total da amostra observada (e.g., Cocroft e Ryan, 1995;

Robillard *et al.*, 2006; Erdtmann e Amézquita, 2009). Este caráter foi tratado aqui como caráter contínuo seguindo (*sensu* Goloboff *et al.*, 2006).

Caráter 28. *Duração da multinota (milissegundos)*

Caráter M3 Modificado de Robillard *et al.* (2006).

Caráter 29. *Duração da nota (milissegundos)*

Modificado do caráter M5 de Robillard *et al.* (2006).

Caráter 30. *Ritmo de emissão das notas (notas/segundo)*

Modificado do caráter M7 de Robillard *et al.* (2006).

Tabela 2. Matriz de dados fenotípicos. Para nomes e estados de caracteres ver Resultados (continua).

	Número do caractere																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Centrolenidae	0	1	0	1	0	?	-	-	?	?	0	0	0	0	-	-	-	-	-	0	-	0	1	0	0	-	4.200-5.500	-	0.120-0.400	2.46-4.93
<i>Adenomera ajurauna</i>	0	0	-	1	0	?	3	?	?	?	?	?	?	?	0	0&1	1	1	0&1	1	1	1	0	0	1	-	4.318-4.639	-	0.157-0.282	0.19-0.53
<i>Adenomera andreae</i>	0	0	-	1	0	?	3	1	-	3	?	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	-	4.654-5.339	-	0.037-0.090	0.25-0.51
<i>Adenomera araucaria</i>	0	1	0	1	0	?	3	?	?	?	?	?	?	?	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	-	4.459-4.842	-	0.132-0.173	0.43-0.74
<i>Adenomera bokermanni</i>	0	0	-	0	-	?	3	1	-	3	0	1	?	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	-	2.895-3.354	-	0.084-0.126	0.60-1.14
<i>Adenomera coca</i>	0	1	2	0	-	?	2&3	?	?	?	?	?	?	?	0	0	0	0	0	1	1	?	0	0	1	-	3.530-3.707	-	0.115-0.144	1.10-1.40
<i>Adenomera cotuba</i>	0	1	0	1	0	?	2&3	?	?	?	?	?	?	?	0	0	0	0	0	0&1	1	?	0	0	1	-	3.550-3.710	-	0.096-0.122	0.26-0.52
<i>Adenomera diptix</i>	0	1	0	1	0	?	3	1	-	3	0	1	?	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	-	4.200-4.500	-	0.057-0.088	0.99-1.80
<i>Adenomera engelsi</i>	0	0	-	0	-	?	3	?	?	?	?	?	?	?	0	0&1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	-	3.603-3.976	-	0.125-0.185	0.16-0.33
<i>Adenomera heyeri</i>	0	1	0	1	0	?	?	?	?	?	?	?	?	?	0	1	1	1	1	0&1	1	1	0	0	1	-	3.568-3.844	-	0.137-0.185	0.56-0.56
<i>Adenomera hylaedactyla</i>	0	1	0	1	0	1	3	1	-	3	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	-	3.958-4.476	-	0.034-0.062	2.70-4.20
<i>Adenomera lutzi</i>	0	0	-	1	0	?	3&5	1	-	3	?	?	?	?	0	1	1	1	0	0&1	1	1	0	0	1	-	3.273-3.617	-	0.041-0.064	0.28-0.38
<i>Adenomera marmorata</i>	0	0	-	0&1	0	1	3	1	-	3	0	1	?	1	0&1	0&1	1	1	0&1	1	1	1	0	0	1	-	4.338-4.618	-	0.050-0.080	0.45-0.83
<i>Adenomera martinezi</i>	0	1	0	0	-	?	2&5	1	-	3	?	?	?	?	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1.880-2.060	-	0.063-0.151	1.77-2.28
<i>Adenomera nana</i>	0	0	-	0	-	?	3	?	?	?	?	?	?	?	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	-	4.679-5.312	-	0.083-0.109	0.3-0.5
<i>Adenomera saci</i>	0	0	-	0	-	?	3&5	1	-	3	?	1	?	0	0	0	0	0	0	1	1	?	0	0	1	-	3.850-3.490	-	0.101-0.123	1.71-3.12
<i>Adenomera simonstuarti</i>	0	1	2	1	0	?	3	?	?	?	?	?	?	?	0	1	1	1	0	1	1	?	0	0	1	-	2.006-1.919	-	0.061-0.069	3.6-4.1
<i>Adenomera</i> sp. B	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
<i>Adenomera</i> sp. C	?	?	?	0	-	?	3	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	0	?	?	?	?	0	?	?	?	4.057-4.953	?	?	?
<i>Adenomera</i> sp. D	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
<i>Adenomera</i> sp. E	0	1	0	1	0	?	3	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	0	?	?	?	?	0	?	?	-	4.415-5.052	-	0.155-0.259	0.10-0.60
<i>Adenomera</i> sp. F	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
<i>Adenomera</i> sp. G	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
<i>Adenomera</i> sp. I	0	1	0	1	0	?	?	?	?	?	?	?	?	?	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	-	3.962-4.134	-	0.177-0.182	1.00-1.00
<i>Adenomera</i> sp. N	?	?	?	?	?	?	3	?	?	?	0	1	?	1	0	0&1	1	1	0&1	1	1	1	0	0	1	?	?	?	?	?
<i>Adenomera</i> sp. "sambaqui"	0	0	-	0	-	1	2&3	?	?	?	?	?	?	?	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	-	3.101-3.444	-	0.087-0.156	0.61-2.3
<i>Adenomera</i> sp. P	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?

Tabela 2 (continuação). Matriz de dados fenotípicos. Para nomes e estados de caracteres ver Resultados.

	Número do caractere																														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
<i>Adenomera</i> sp. Q	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	
<i>Adenomera</i> sp. R	0	1	1	1	0	?	3	?	?	?	?	?	?	?	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	-	4.946-5.390	-	0.056-0.119	0.28-0.71	
<i>Adenomera</i> sp. "catarinense"	0	0	-	0	-	1	3	?	?	?	?	?	?	?	0&1	0&1	1	1	0&1	1	1	1	0	0	1	-	4.978-5.357	-	0.020-0.053	0.58-0.96	
<i>Adenomera thomei</i>	0	1	0	0	-	1	2&3	1	-	3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	-	3.781-4.488	-	0.180-0.285	0.32-0.51	
<i>Crossodactylodes itambe</i>	?	?	?	?	?	?	?	0	1	-	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	-	0	1	0	0	?	?	?	?	?	
<i>Engystomops pustulosus</i>	0	0	-	1	1	?	0	0	1	-	0	1	?	0	0	0	0	0	0	0	-	0	1	0	0	-	0.660-0.780	-	0.236-0.283	?	
<i>Hydrolaetare dantasi</i>	0	0	-	1	0	?	0&5	?	?	?	?	?	?	?	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0.6-2.2	0.130-0.410	0.437-0.647	?	13.00-49.00	
<i>Leptodactylus albilabris</i>	0	0	-	1	0	?	?	?	?	?	0	1	?	?	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	-	2.000-2.800	-	0.046-0.050	4.00-4.00	
<i>Leptodactylus bufonius</i>	0	0	2	1	0	?	2&5	1	-	3	0	1	?	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	-	1.000-2.000	-	0.150-0.200	1.25-1.25	
<i>Leptodactylus elenae</i>	0	0	-	1	0	?	?	?	?	?	?	?	?	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0&1	-	1.370-1.500	-	0.020-0.030	1.10-2.00	
<i>Leptodactylus fallax</i>	0	1	0	1	0	1	4	1	-	?	?	-	?	0	?	?	?	?	?	1	1	0	1	?	?	-	0.500-1.500	-	0.180-0.200	0.70-1.00	
<i>Leptodactylus fuscus</i>	0	0	-	1	0	?	2&4&5	1	-	3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	-	1.000-2.800	-	0.160-0.170	1.00-1.00	
<i>Leptodactylus insularum</i>	0	0	-	0	?	?	?	0	1	-	1	1	?	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	-	0.110-1.200	-	0.080-0.120	1.20-2.50	
<i>Leptodactylus knudseni</i>	0	1	0	0	-	?	3	1	-	?	-	?	?	0	0	0	0	0	0	1	0&1	0	1	1	0	-	0.340-0.690	-	0.160-0.430	0.25-1.10	
<i>Leptodactylus labyrinthicus</i>	0	0	-	0	-	?	0&4	1	-	1&2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	-	0.400-0.600	-	0.140-0.210	0.58-0.83	
<i>Leptodactylus latrans</i>	?	?	?	?	?	?	?	0	1	-	?	?	?	0	-	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	-	3.100-4.000	-	0.110-0.200	2.30-2.30
<i>Leptodactylus melanonotus</i>	0	1	0	0	-	?	0	0	1	-	?	1	?	?	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	-	1.000-3.000	-	0.020-0.090	2.50-2.66	
<i>Leptodactylus mystaceus</i>	0	1	0	1	0	?	3&5	1	-	3	0	1	1	?	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	-	0.700-1.400	-	0.150-0.250	1.80-1.80	
<i>Leptodactylus mystacinus</i>	0	0	-	0	-	?	2&3&5&6	1	-	3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	-	2.000-2.500	-	0.040-0.060	4.10-6.66	
<i>Leptodactylus pentadactylus</i>	0	1	0	1	0	?	?	1	-	1	?	1	?	0	0	0	0	0	0	1	0&1	0	1	0	0	-	0.680-1.030	-	0.189-0.400	0.06-0.62	
<i>Leptodactylus podicipinus</i>	0	0	-	1	0	?	3&4	0&1	1	1&2	1	1	?	0	0	0	0	0	0	1	0&1	0	1	0&1	0	-	1.000-3.500	-	0.020-0.040	0.50-8.40	
<i>Leptodactylus rhodomystax</i>	0	1	0	1	0	?	4	1	-	1	?	1	?	0	0	0	0	0	0	1	0&1	0	1	1	0	-	3.700-5.400	-	0.120-0.230	0.23-0.23	
<i>Lithodytes lineatus</i>	0	1	0	0	1	?	2&3	?	?	?	0	1	?	0	0	0&1	1	1	0	0	-	?	0	0	0	-	2.600-2.600	-	0.120-0.120	1.33-1.50	
<i>Paratelmatobius gaigeae</i>	?	0	-	0	-	1	2&3	0	1	-	?	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	1	0	0	?	2.290-3.110	?	0.058-0.054	?	
<i>Physalaemus feioi</i>	1	0	-	1	0	?	3	0	1	-	0	1	?	0	0	0	0	0	0	0	-	0	1	0	0	3.0-7.5	2.550-2.560	3.6-5.0	0.040-0.045	10.0-13	
<i>Pleurodema bibroni</i>	1	1	0	0	-	?	0	0	1	-	1	1	?	0	0	0	0	0	0	0	-	0	1	0	0	3.9-33.7	1.855-2.065	3.63-33.71	0.045-0.053	9.7-11.1	
<i>Pseudopaludicola falcipes</i>	1	1	0	0	-	?	0&1	0	1	-	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	1	0	0	?	4.200-5.800	?	0.035-0.045	9.16-9.16	
<i>Rupirana cardosoi</i>	0	0	-	0	-	?	0&3	0	1	-	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	1	0	0	?	1.170-1.410	?	0.124-0.228	?	

ANÁLISE FILOGENÉTICA

A análise cladística realizada a partir de caracteres fenotípicos e DNA envolvendo e 55 táxons terminais resultou em uma árvore mais parcimoniosa com 14455 passos, índice de retenção igual a 0,51 e índice de consistência igual a 0,27.

Com relação ao outgroup, assim como no primeiro capítulo apresentado anteriormente, a subfamília Leiuperinae (*sensu* Pyron e Wiens, 2011) não foi recuperada como um agrupamento monofilético com respeito à espécie *Pseudopaludicola falcipes*, que foi recuperada na base da árvore como irmão de todos os integrantes da família Leptodactylidae. (Figura 6). As subfamílias Paratelmatoquinae e Leiuperinae (exceto *Pseudopaludicola*) foram recuperados como agrupamentos irmãos com baixo suporte de Jackknife (32%) e este último agrupamento foi recuperado como irmão da subfamília Leptodactylinae (*Hydrolaetare* + *Leptodactylus* + *Lithodytes* + *Adenomera*), também com baixo valor de reamostragem por Jackknife (75%; Figura 6).

Dentro do gênero *Leptodactylus*, os grupos de espécies de *L. pentadactylus* e *L. melanonotus* não foram recuperados como monofiléticos em relação a *L. rhodomystax* e ao grupo de *L. latrans*, respectivamente. O gênero *Lithodytes* foi recuperado como grupo irmão do gênero *Adenomera* (Figura 6) e este clado (*Adenomera* + *Lithodytes*) foi recuperado como grupo irmão de (*Hydrolaetare* + *Leptodactylus*) com alto valor de suporte Jackknife (100%).

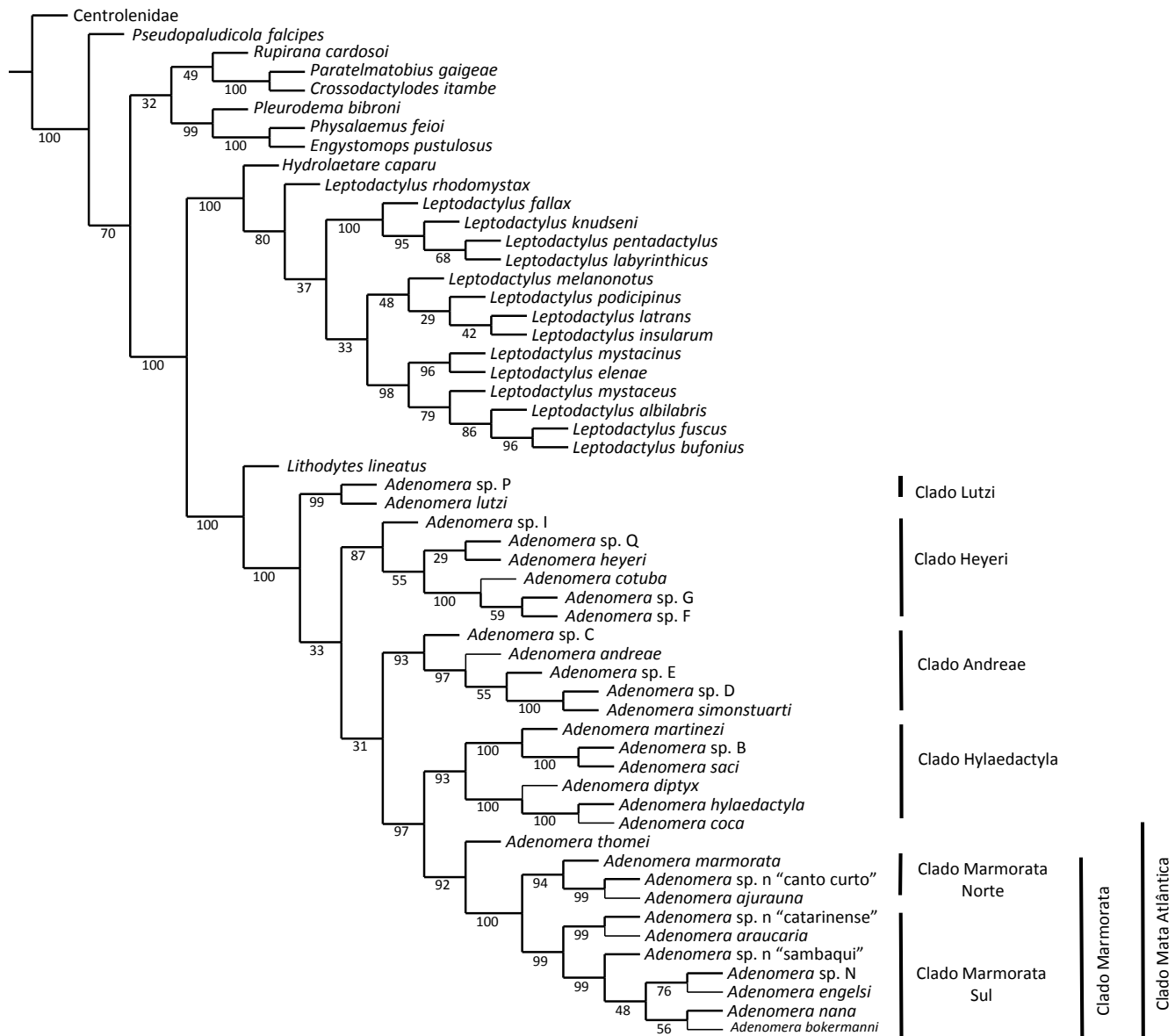


Figura 6. Árvore mais parcimoniosa encontrada a partir da análise de evidência total. Números nos ramos indicam o valor de suporte por Jackknife (1000 pseudoréplicas).

Recuperamos o clado Lutzi como o mais basal dentro do gênero *Adenomera*, seguidos pelos clados Heyeri e Andreae (Figura 6). O relacionamento na base da árvore dentro do gênero *Adenomera* ainda merece maior atenção, pois os valores de suporte Jackknife

encontrados foram baixos. O clado *Hylaedactyla* foi recuperado como grupo irmão do clado Mata Atlântica com alto valor de suporte (97%) e dentro do clado *Marmorata* os cladogramas *Marmorata* Norte e *Marmorata* Sul foram recuperados como grupos irmãos também com alto valor de Jackknife (100%). Dentro do clado *Marmorata* Sul não encontramos valores significativos que suportem a topologia encontrada entre as espécies *A. nana*, *A. bokermanni*, *A. engelsi* e *A. sp. N.*

SINAPOMORFIAS

Leptodactylinae

Na topologia da árvore que obtivemos, o clado correspondente à subfamília *Leptodactylinae* é suportado por duas sinapomorfias: o sítio de oviposição (caráter 8, estado 1), e o comportamento presente de girinos que produzem espuma e mantêm o ninho (caráter 13, estado 1), ambas não homoplásticas (Figura 7).

Leptodactylus + *Hydrolaetare*

O gênero *Hydrolaetare* é irmão do gênero *Leptodactylus*. Estes formam um clado suportado por uma sinapomorfia, a presença de projeções queratinizadas na região medial dos dedos III e IV da mão (caráter 24, estado 1; Figura 7). Na topologia obtida na nossa análise este caráter sofreu cinco reversões (perdas) independentes dentro do gênero *Leptodactylus*: uma na espécie *L. pentadactylus*, uma na espécie *L. melanonotus* e três perdas independentes dentro do grupo de espécies de *L. fuscus* (Figura 8).

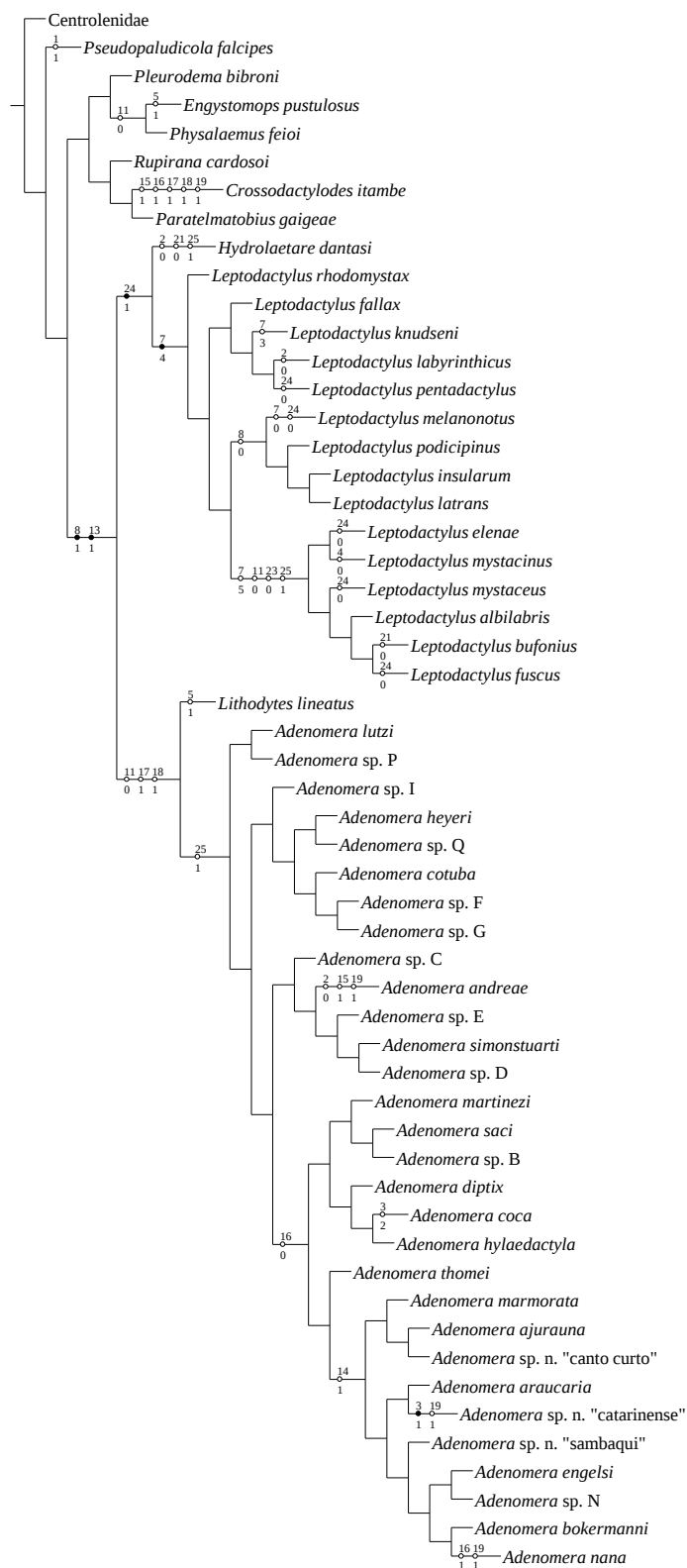


Figura 7 (página anterior). Cladograma mostrando as sinapomorfias de cada nó. Números acima e abaixo dos ramos são os números dos caracteres e os seus estados, respectivamente. Círculos brancos e pretos indicam caracteres homoplásticos e não-homoplásticos respectivamente.

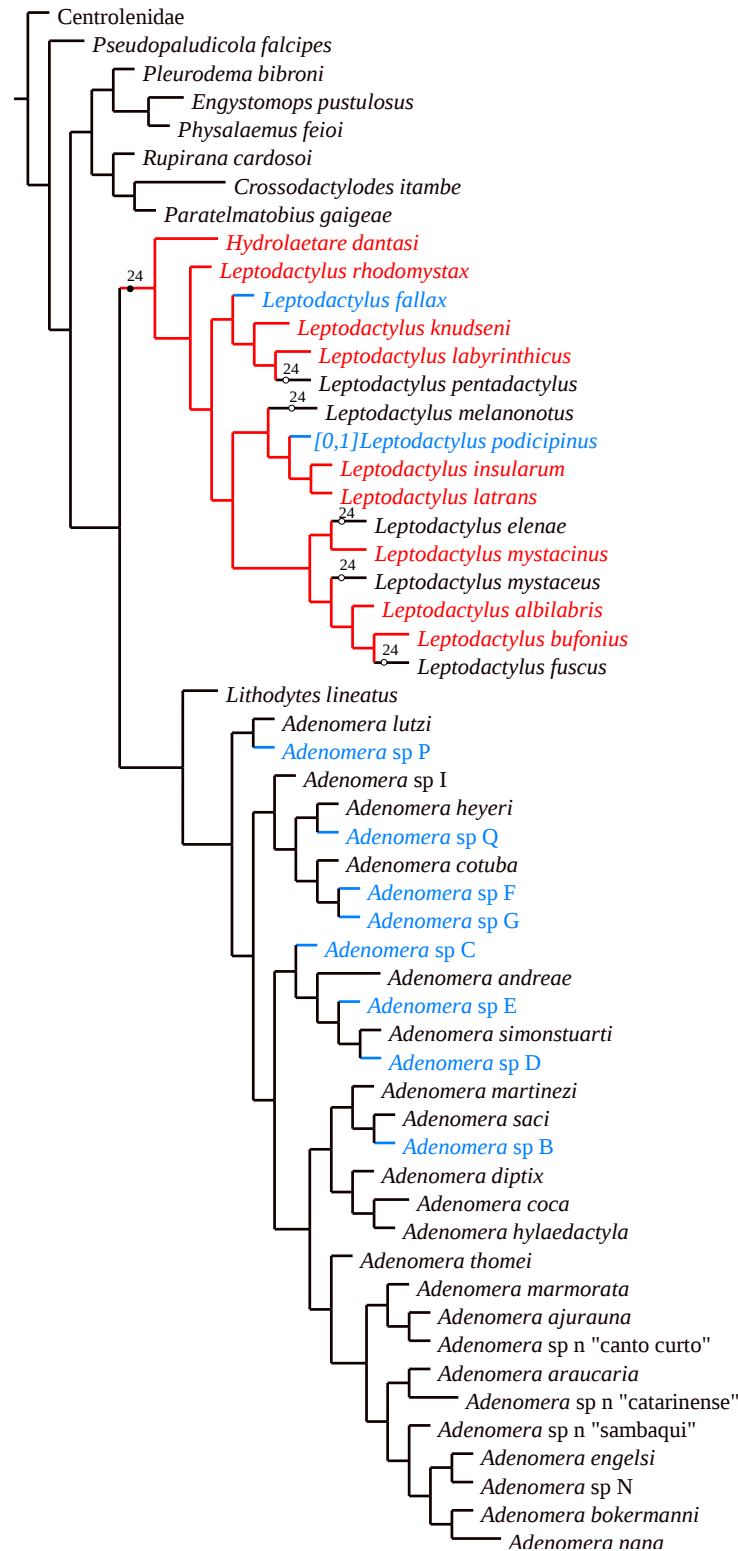


Figura 8 (página anterior). Mapeamento e otimização do caráter 24 (projeções queratinizadas na região medial dos dedos III e IV da mão). Ramos **em preto** – estado 0 (ausente); **em vermelho** – estado 1 (presente); **em azul** – ambíguo.

Observamos formatos distintos de projeções córneas na região medial dos dedos III e IV nas demais espécies do gênero *Leptodactylus*. Não obstante, a morfologia das projeções pode mudar dentro de cada grupo do clado. Até o presente momento, nossa amostragem não permitiu testar a homologia dos formatos destas projeções dentro de *Leptodactylus* + *Hydrolaetare*.

Em algumas espécies do grupo de *L. fuscus*, as projeções córneas não apresentam coloração sob microscópio estereoscópico (Figura 9). Nestas espécies as projeções apresentam formato arredondado na região apical e ordenados numa fileira até a região do dital dos dedos (Figura 10). As projeções são formadas por células epidérmicas que envolvem uma fina camada de derme no centro. A superfície é coberta por um estrato córneo com células altamente queratinizadas e há presença de glândulas mucosas na derme esponjosa na região das projeções córneas (Figura 10).

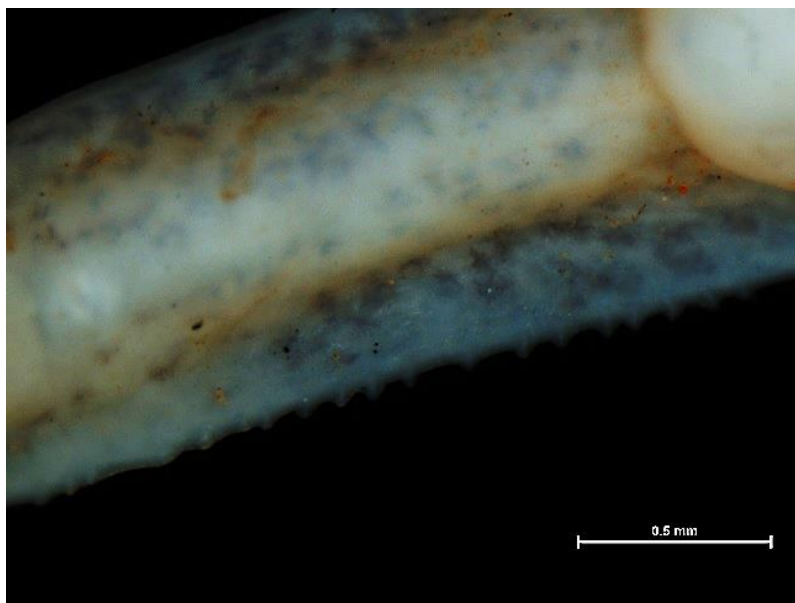


Figura 9. Projeções na região medial do dedo III da mão em *Leptodactylus mystacinus* (CFBH 9804).

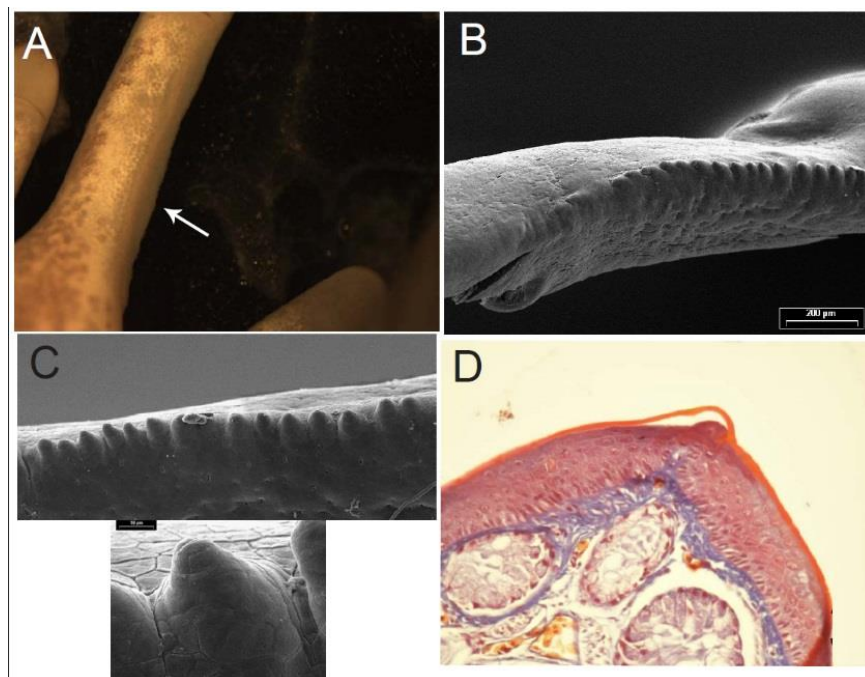


Figura 10. Morfologia das projeções na região medial dos dedos III da mão em *Leptodactylus bufonius* (MACN 43368) sob **A** – microscópio estereoscópio; **B** e **C** – microscópio eletrônico de varredura e **D** – microscópio óptico.

As espécies do grupo de *L. latrans* e *L. melanonotus* também apresentam projeções córneas na região medial dos dedos III e IV. Os adultos das espécies do grupo de *L. latrans* apresentam, além das projeções córneas na região medial dos dedos III e IV, espinhos na região dorsal dos dedos. Em algumas espécies do grupo de *L. latrans*, as projeções córneas na região medial dos dedos III e IV são visíveis sob microscópio estereoscópico e apresentam coloração escura. As projeções apresentam formato de espinho ou formato arredondado, ordenadas numa fileira na região medial dos dedos III e IV (Figura 11). Os espinhos dorsais dos dedos são formados por células epidérmicas que circundam uma fina camada de derme e há presença de glândulas mucosas na derme esponjosa na região das projeções córneas (Figura 11). As projeções córneas na região medial dos dedos III e IV se diferenciam dos

espinhos na região dorsal dos dedos por serem menos desenvolvidas do que estes últimos (Figura 11).

Os adultos das espécies do grupo de *L. pentadactylus* não apresentam as projeções córneas na região medial dos dedos III e IV. Machos adultos deste grupo apresentam apenas os espinhos na região dorsal dos dedos. No entanto, os juvenis e subadultos apresentam as projeções escuras na região medial dos dedos III e IV visíveis a olho nu com formato de espinho (i.e., não arredondado) dispostas em fileira (Figura 11) e de anatomia histológica como descrita anteriormente para *L. bufonius* e *L. latrans*. Sob microscópio estereoscópico é possível observar facilmente a presença de ácinos glandulares associados abaixo da região dos espinhos localizados na região dorsal dos dedos em machos de *L. labyrinthicus* (Figura 11). Sob microscópio eletrônico é possível observar que estes espinhos apresentam tamanhos irregulares. É possível observar glândulas mucosas abaixo dos espinhos do dorso dos dedos em *L. labyrinthicus*. Inclusive, é possível observar também a presença de poros localizados próximos a estes espinhos (Figura 11 E1, E2 e F2).

Leptodactylus

O clado contendo as espécies do gênero *Leptodactylus* é suportado por uma sinapomorfia não homoplástica: sítio de vocalização em depressões naturais (caráter 7, estado 4; Figura 7). Dentro do gênero *Leptodactylus* ocorre o aparecimento secundário de dois estados homoplásticos deste caráter mais derivados: O sítio de vocalização (1) em solo no meio do folhíço em *L. knudseni* (caráter 7 estado 3), presente também em algumas espécies do gênero *Adenomera* (Figura 12) e (2) dentro de tocas subterrâneas (caráter 7, estado 5) é derivado dentro do gênero *Leptodactylus* no nó que define o grupo de *L. fuscus* e

também compartilhado com algumas espécies do gênero *Adenomera* (e.g., *A. lutzi*, *A. martinezi* e *A. saci*; Figura 12).

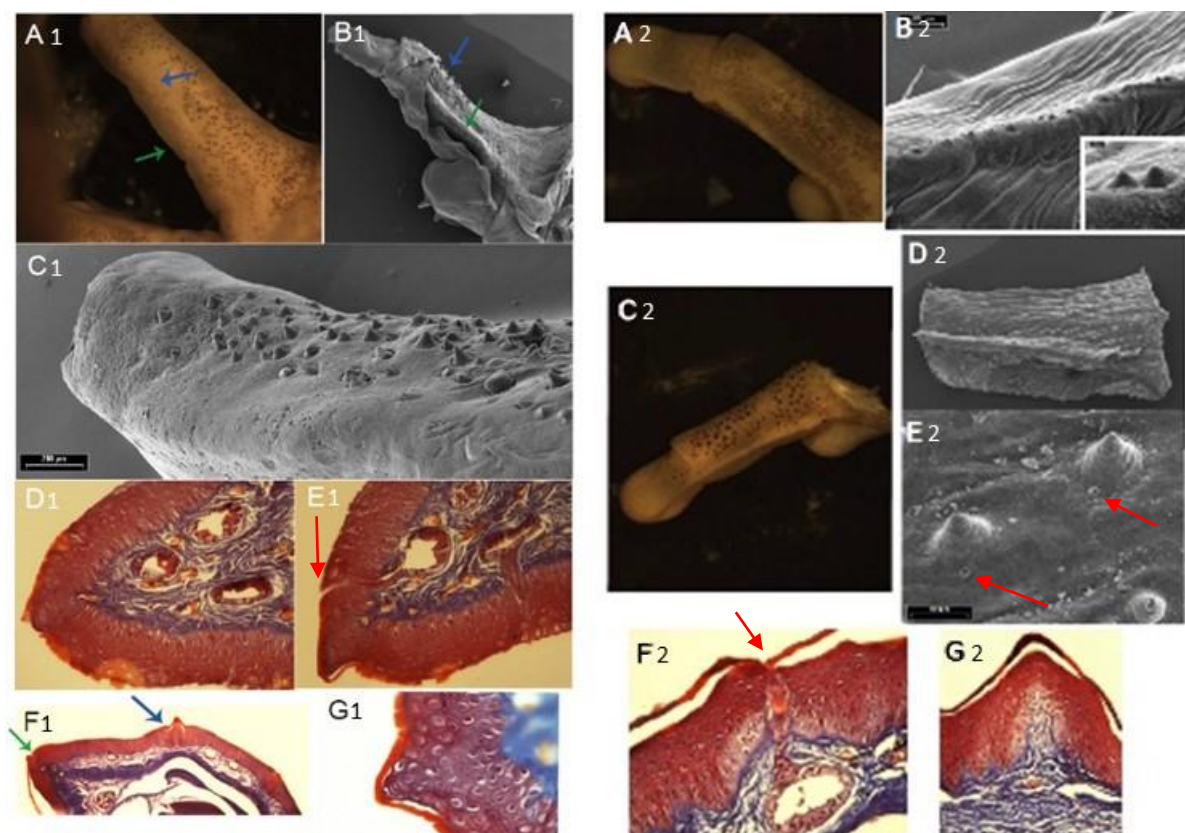


Figura 11. Morfologia das projeções nas regiões dorsal e medial dos dedos III da mão em *Leptodactylus chaquensis* (MACN 42279) sob A1 – microscópio estereoscópio; B1 e C1 – microscópio eletrônico de varredura e D1 – G1 – microscópio óptico. D1 – projeção da região medial dos dedo III e E1 e G1 – projeções da região dorsal do dedo. Morfologia das projeções nas regiões dorsal e medial dos dedos III da mão em *Leptodactylus pentadactylus*. A2 e B2 – CFBH 23510, sub adulto; C2 – G2 – CFBH 31812, adulto. Setas verdes indicam as projeções da região medial dos dedos III e IV da mão; setas azuis indicam espinhos da região dorsal dos dedos da mão; setas vermelhas indicam a localização da abertura do poro de glândulas mucosas próximas aos espinhos.

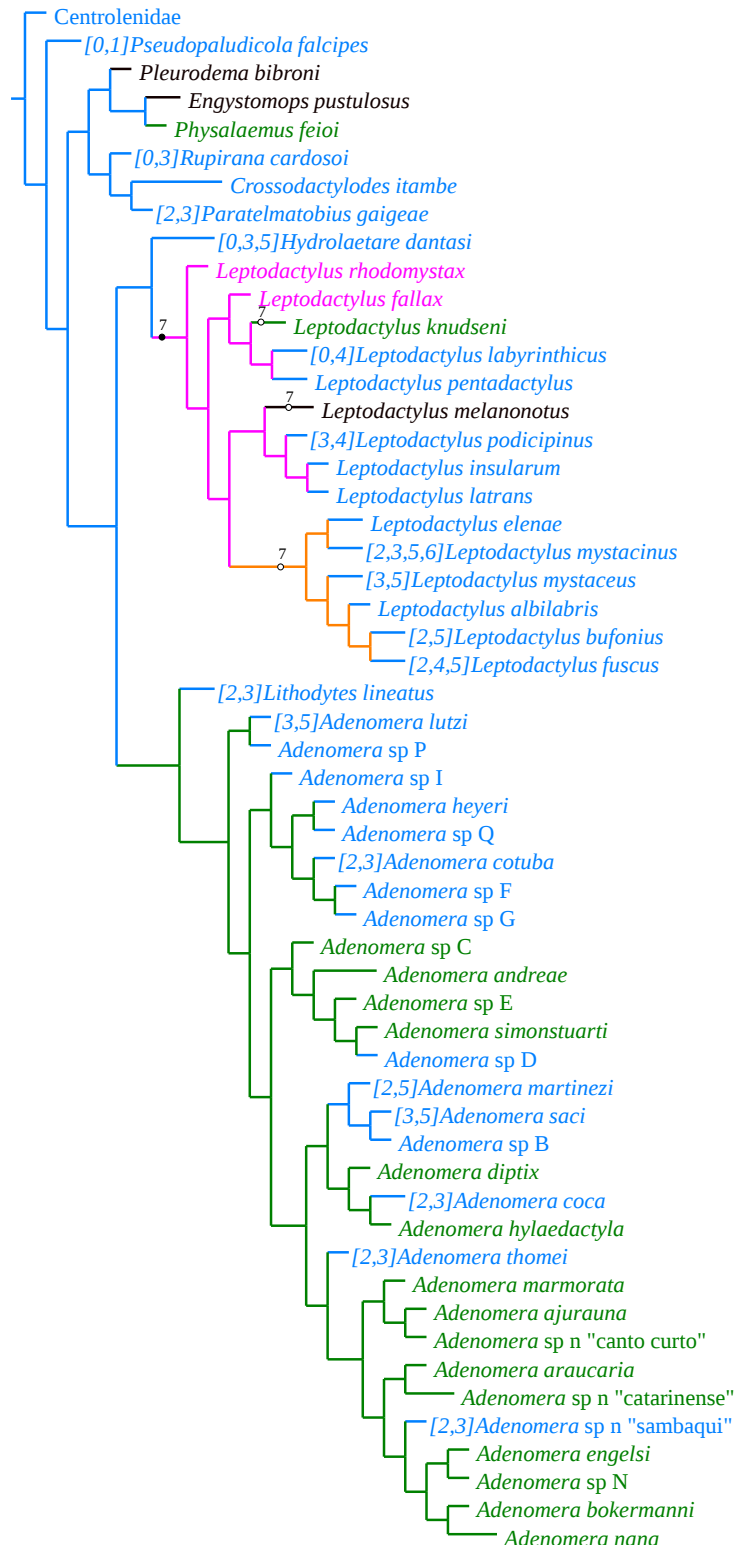


Figura 12 . Mapeamento e otimização do caráter 7 (sítio de vocalização). Ramos **em preto** – estado 0 (água); **em vermelho** – estado 1 (rochas); **em verde** – estado 3 (terra no meio da vegetação); **em rosa** – estado 4 (depressões naturais); **em laranja** – estado 5 (depressões construídas); **em azul** – ambíguo.

Adenomera

O gênero *Adenomera* é suportado por duas sinapomorfias, sendo uma delas não ambígua, mas homoplástica. A presença de um focinho espatulado em machos (caráter 25, estado 1) é uma sinapomorfia homoplástica de *Adenomera*, sendo compartilhado com as espécies do grupo de *Leptodactylus fuscus* e com o gênero *Hydrolaetare*. A presença da glândula ectopeitoral em machos (caráter 22, estado 1) foi encontrada como uma sinapomorfia ambígua que suporta o clado *Adenomera* (Figuras 7 e 13) devido à falta de informação para *Lithodytes lineatus*. Numa otimização acelerada (ACTRAN) este estado de caráter (caráter 22, estado 1) otimiza como uma sinapomorfia não ambígua de *Adenomera* + *Lithodytes*, e numa otimização lenta (DELTRAN) este estado de caráter otimiza como sinapomorfia não ambígua de *Adenomera*.

No que diz respeito à evolução fenotípica dentro do gênero *Adenomera*, de acordo com a sua distribuição na matriz de caracteres fenotípicos e com a topologia da nossa análise filogenética, a presença de girinos endotróficos (caráter 14, estado 1) é um estado homoplástico otimizado de maneira não ambígua no nó que agrupa os clado *Marmorata*, estando presente também em *A. andreae* e *A. hylaedactyla* (Figura 7 e 14), sugerindo três aparecimentos independentes. No entanto, este resultado deve ser analisado com cautela dada à falta de informação disponível para os terminais mais basais do gênero *Adenomera* (e.g., *A. lutzi* e *A. heyeri*).

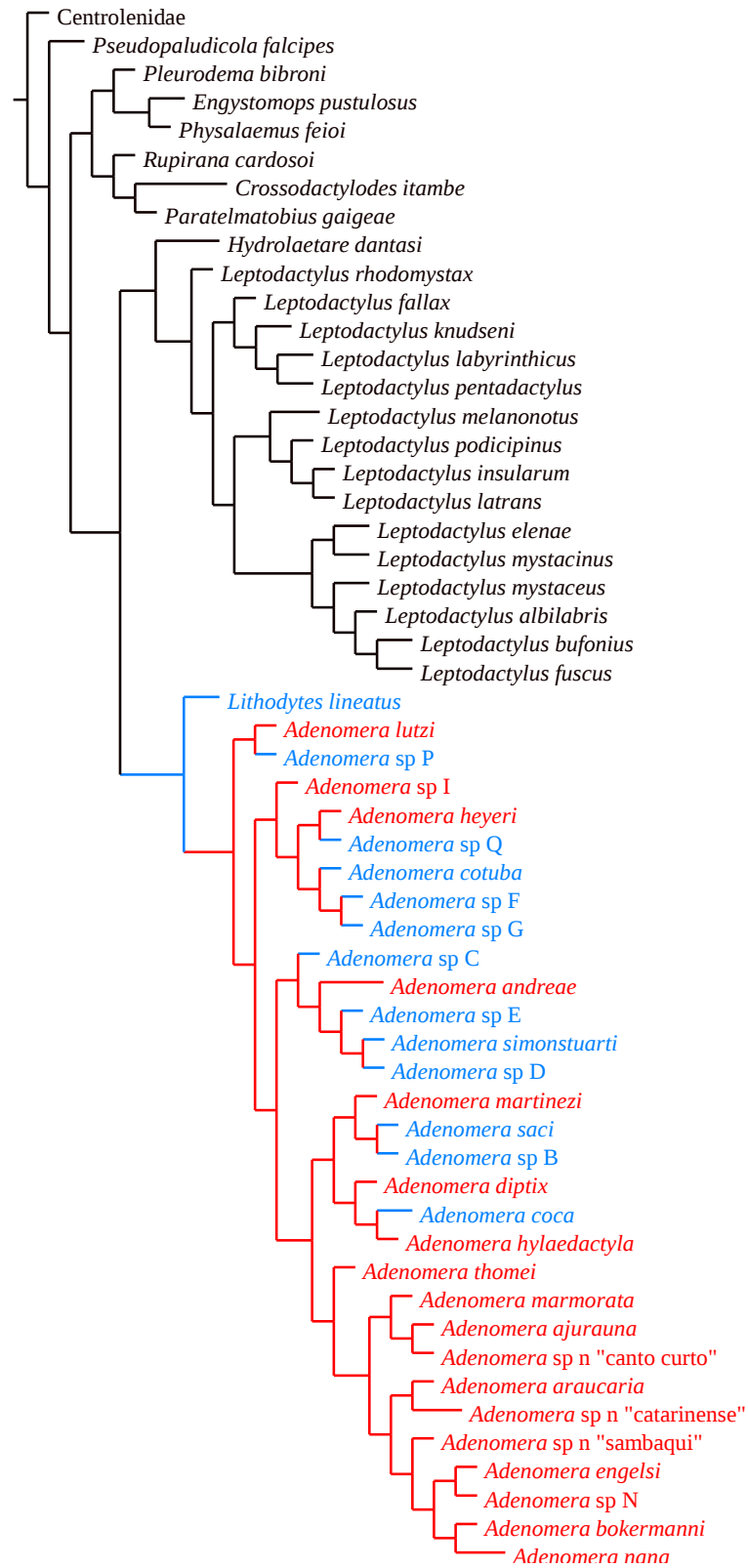


Figura 13. Mapeamento e otimização do caráter 22 (glândula ectopeitoral em machos). Ramos **em preto** – estado 0 (ausente); **em vermelho** – estado 1 (presente); **em azul** – ambíguo.

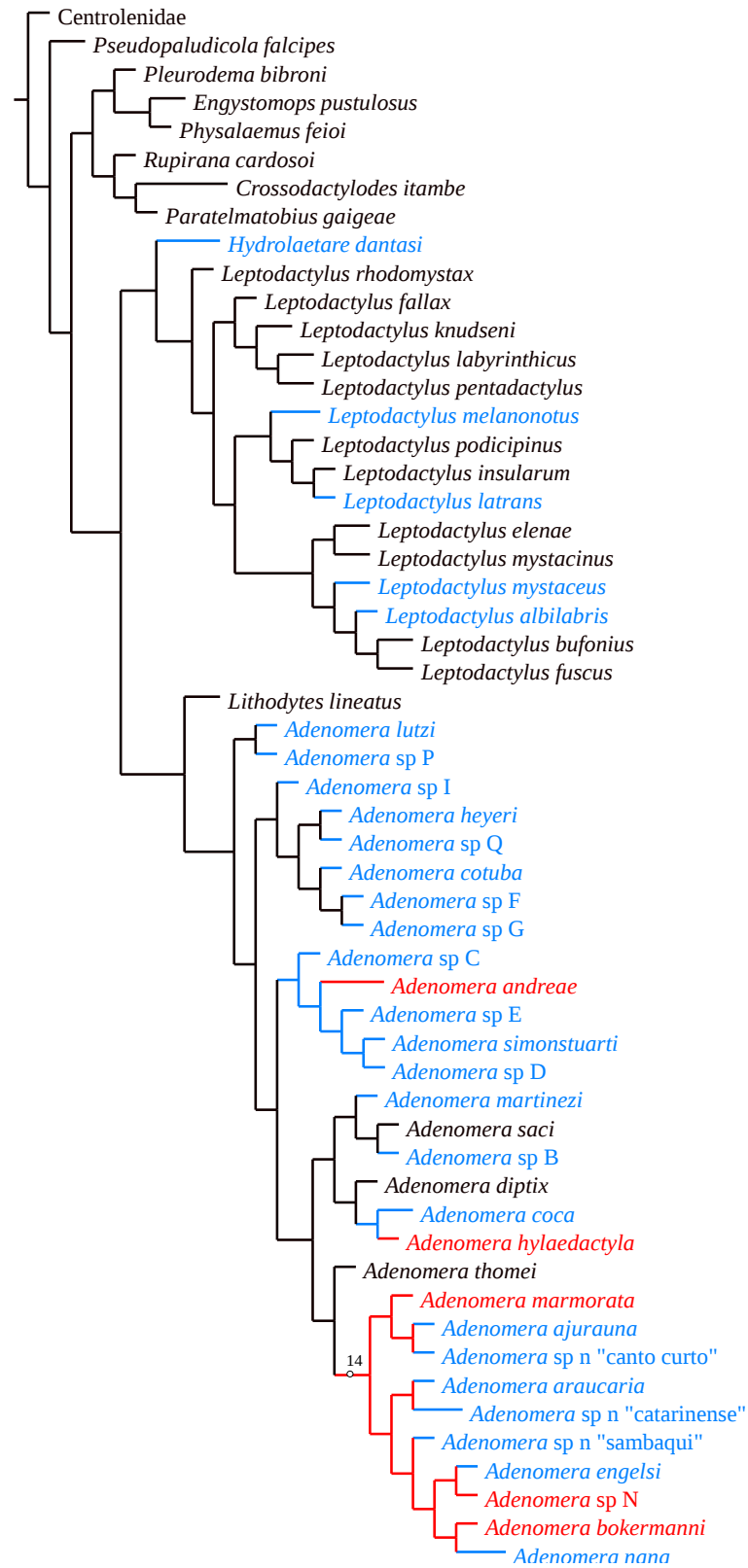


Figura 14. Mapeamento e otimização do caráter 14 (dieta dos girinos). Ramos **em preto** – estado 0 (exotrófico); **em vermelho** – estado 1 (endotrófico); **em azul** – ambíguo.

As falanges terminais dos dedos I e V raramente são expandidas nas espécies do gênero *Adenomera*. A única espécie que apresentou expansão na falange terminal do dedo I foi *A. andreae* (caráter 15, estado 1; Figura 7) e as espécies que apresentaram expansão na falange terminal do dedo V foram *A. heyeri*, *A. andreae*, *A. sp. R* e *A. nana* (caráter 19, estado 1; Figura 15). A expansão na falange terminal do artelho II (caráter 16, estado 1) foi otimizada como sendo um estado de caráter simplesiomórfico dentro gênero *Adenomera* de maneira ambígua (Figura 16). Este estado de caráter pode ser uma sinapomorfia homoplástica tanto do clado *Lithodythes* + *Adenomera* quanto do gênero *Adenomera*, a depender a otimização ser acelerada (ACTRAN) ou lenta (DELTRAN), respectivamente. Em ambas as otimizações, este estado de caráter sofreu duas reversões (caráter 16, estado 0): uma em *A. cotuba* e outra no nó que agrupa os clados Mata Atlântica e *Hylaedactyla*. Além disso, a expansão na falange terminal do artelho II (caráter 16, estado 1) apresenta um surgimento secundário em *A. nana* (Figura 7 e 16). Já as expansões das falanges terminais dos dedos III e IV (caracteres 17 e 18, ambos estado 1) se mostraram muito homoplásticas dentro do gênero *Adenomera*.

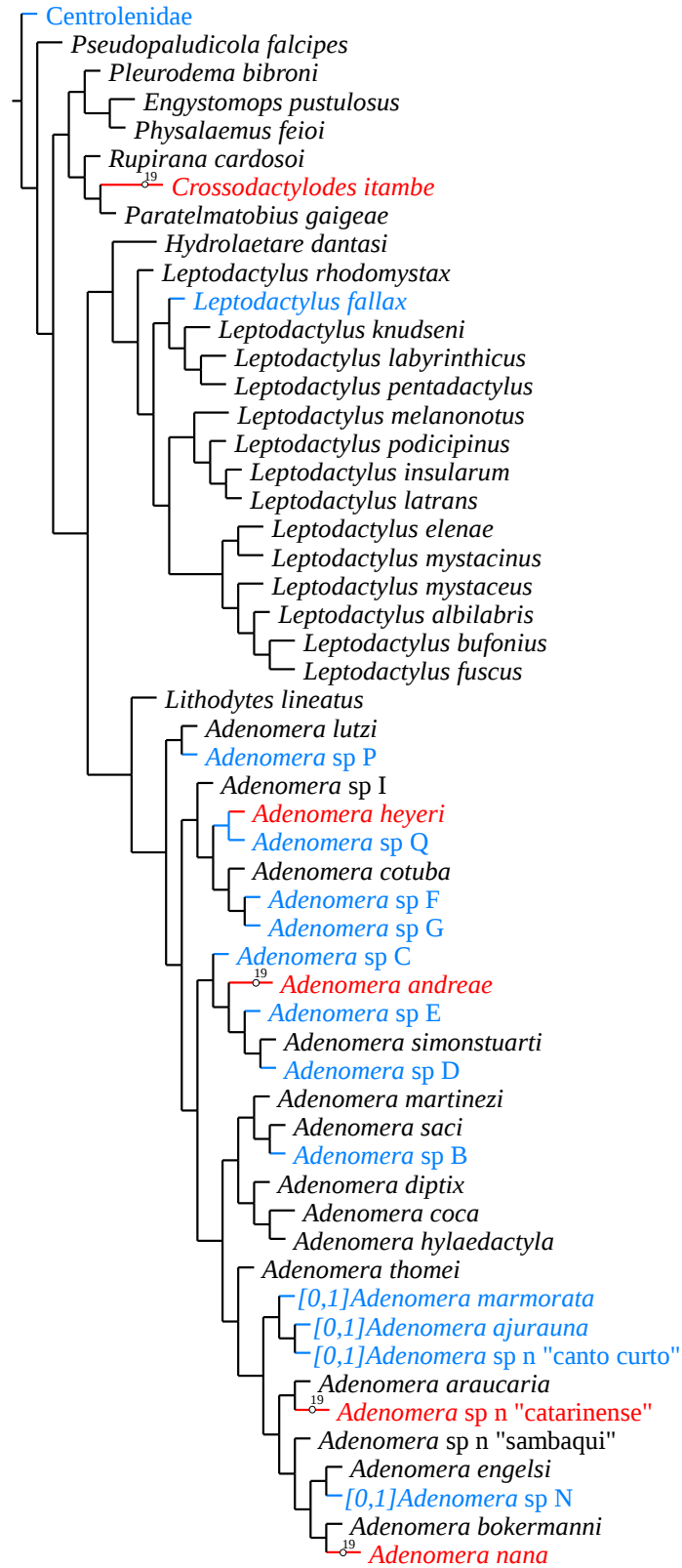


Figura 15. Mapeamento e otimização do caráter 19 (expansão da parte distal do artelho V). Ramos **em preto** – estado 0 (não expandido); **em vermelho** – estado 1 (expandido); **em cinza** – ambíguo.

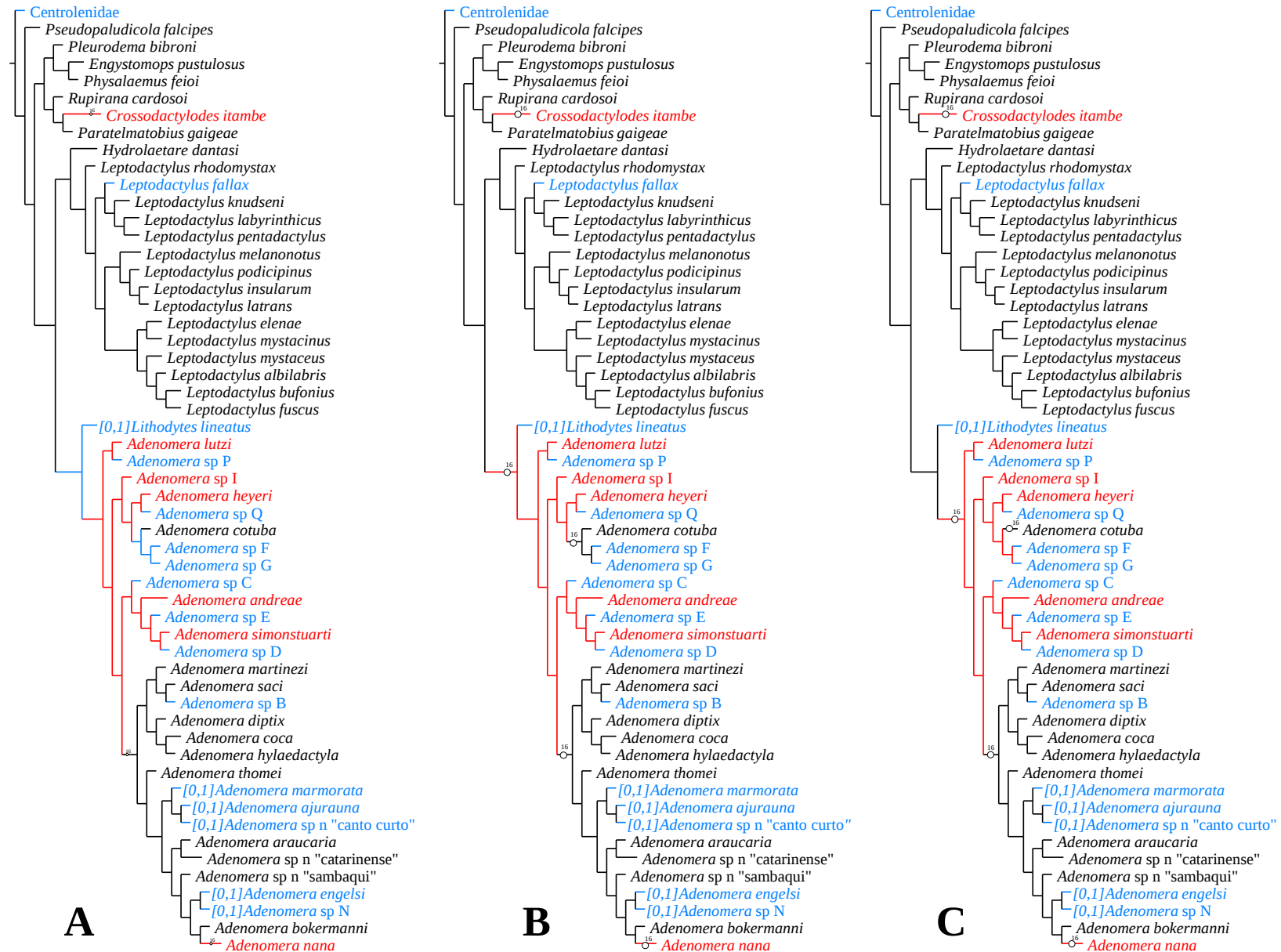


Figura 16. Mapeamento e otimização do caráter 16 (expansão da parte distal do artelho II) **A** – otimização não ambígua; **B** – otimização acelerada; **C** – otimização lenta. Ramos **em preto** – estado 0 (não expandido); **em vermelho** – estado 1 (expandido); **em azul** – ambíguo.

Dentro do gênero *Adenomera*, o canto pulsionado (rápidas modulações de amplitude na nota) é plesiomórfico (caráter 2, estado 1). O canto não-pulsionado (caráter 2, estado 0) apareceu pelo menos quatro vezes de maneira independente durante a história evolutiva do grupo. O nó do clado Marmorata apresenta uma ambiguidade no estado deste caráter por conflito de informação (Figura 17). Numa otimização acelerada (ACCTRAN) um surgimento secundário do canto pulsionado ocorre no clado de *A. araucaria* + *A. sp. n.* “catarinense”. Já numa otimização lenta (DELTRAN) o canto não pulsionado aparece cinco vezes de maneira independente em *Adenomera* (Figura 17)

A otimização da frequência dominante apresentou uma mudança de valor que suporta o nó do clado que engloba o gênero *Adenomera* (Figura 18). Na topologia da árvore obtida na nossa análise filogenética, este é o nó que apresenta os maiores valores de frequência dominante (excluindo os valores apresentados na raiz em Centrolenidae). Os demais valores de frequência dominante otimizados nos nós da árvore até o nó do clado do gênero *Adenomera* apresentaram uma amplitude desde 0,68 kHz até 2,6 kHz. A amplitude de valores otimizados no nó do clado *Adenomera* foram 3,27 – 3,62 kHz (Figura 18). Valores semelhantes da amplitude de frequência dominante foram obtidos no terminal de *L. melanonotus* (1,00 – 3,00 kHz) e mais alto no terminal de *L. rhodomystax* (3,7 – 5,4 kHz).

Da mesma forma, a otimização dos valores de ritmo de emissão da nota apresentou uma mudança no nó do clado do gênero *Adenomera*. Os valores apresentam uma amplitude de 1,33 a 1,50 notas/s no nó do clado *Lithodytes* + *Adenomera* e uma amplitude de 0,56 – 0,6 notas/s no nó do clado *Adenomera*. No entanto, valores semelhantes são observados nos nós do clado do gênero *Leptodactylus* (Figura 19). Interessante apontar o alto valor observado na otimização do nó no clado *Hylaedactyla* (1,4 – 1,77 notas/s) e como essa otimização se diferencia do nó do seu clado irmão Mata Atlântica (0,53 – 0,60 notas/s).

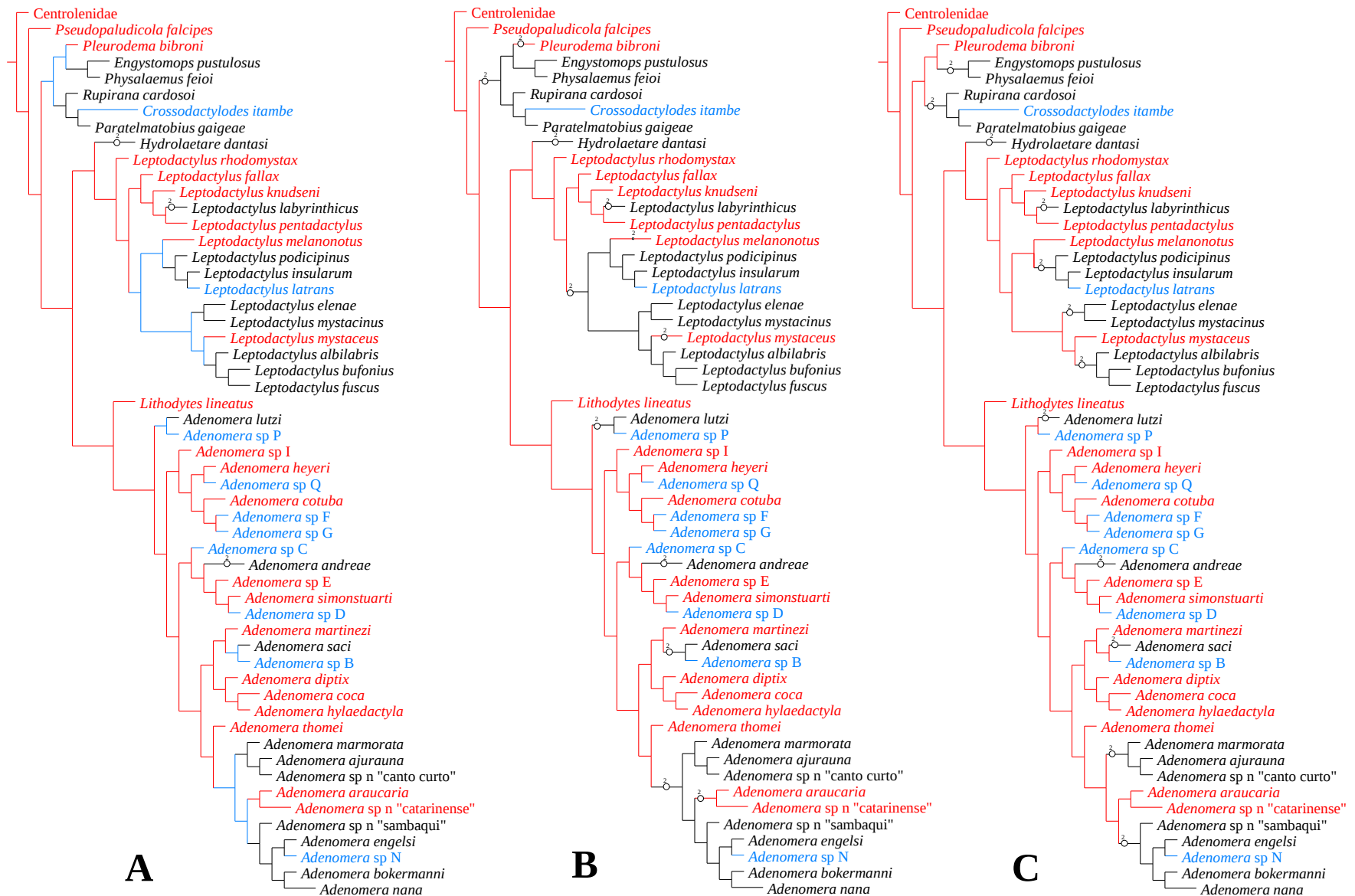


Figura 17. Mapeamento e otimização do caráter 2 (rápida modulação de amplitude – pulsos – na nota) na topologia da árvore obtida através da análise de evidência total. **A** – otimização não ambígua; **B** – otimização acelerada; **C** – otimização lenta. Ramos **em preto** – estado 0 (ausente); **em vermelho** – estado 1 (presente); **em azul** – ambíguo.

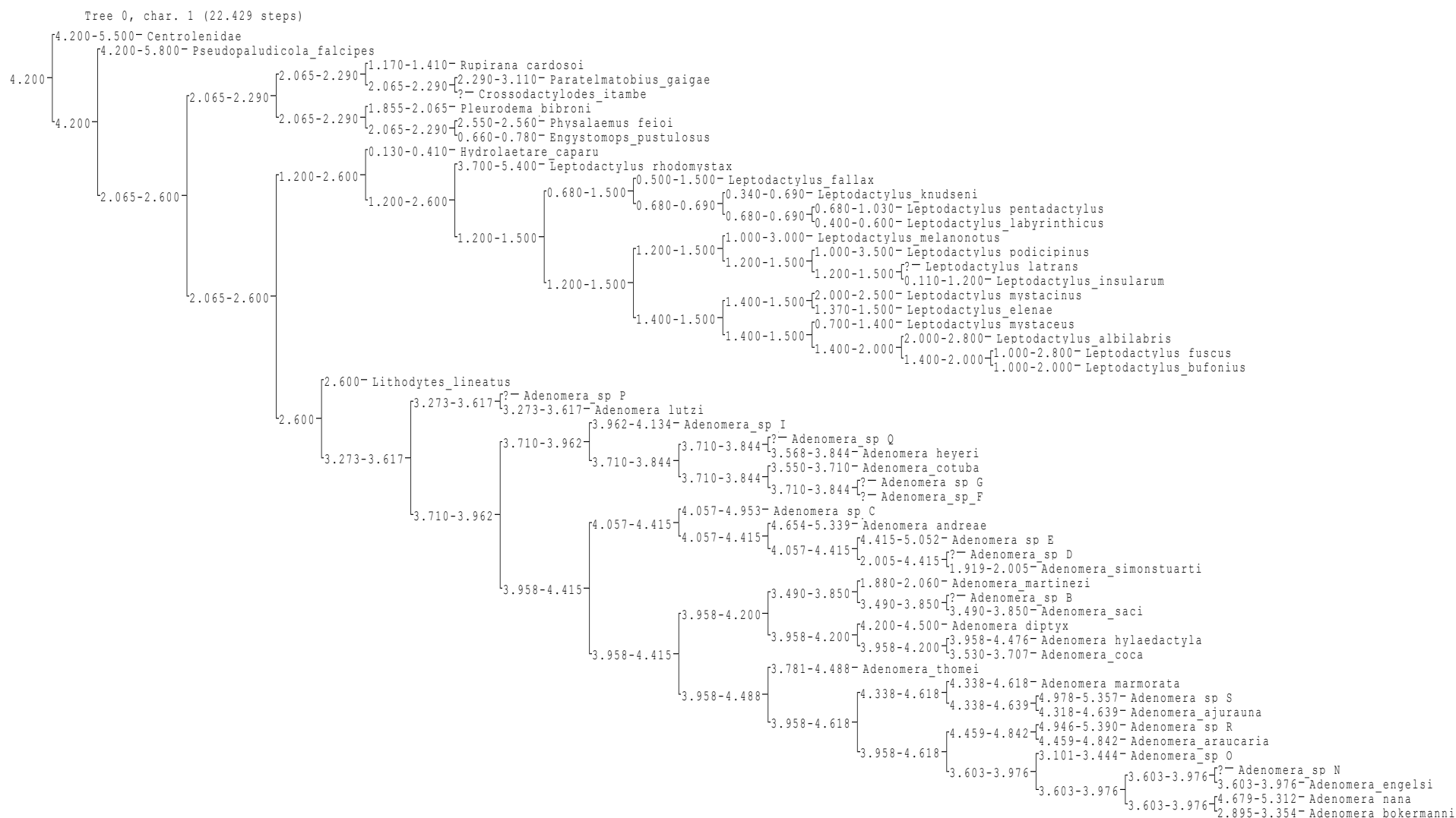


Figura 18. Mapeamento e otimização do caráter 27 (frequência dominante – kHz) na topologia da árvore obtida através da análise de evidência total.

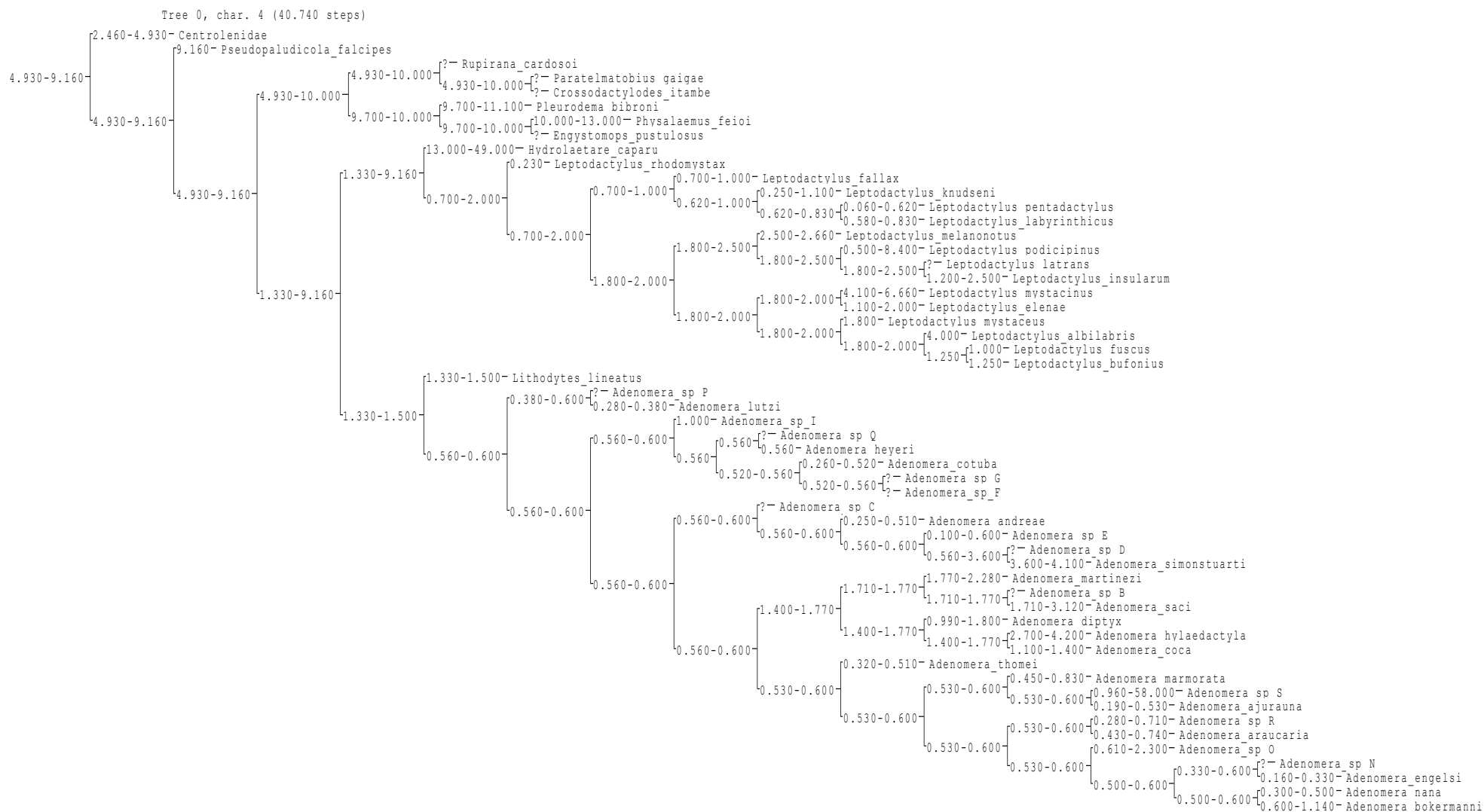


Figura 19. Mapeamento e otimização do caráter 30 (ritmo da emissão da nota – notas/segundo) na topologia da árvore obtida através da análise de evidência total.

DISCUSSÃO

TOPOLOGIA

O relacionamento encontrado entre os terminais do outgroup difere consideravelmente de hipóteses filogenéticas prévias envolvendo a família Leptodactylidae (Ponssa, 2008; Pyron e Wiens, 2011; Fouquet *et al.*, 2013; De Sá *et al.*, 2014). A primeira diferença diz respeito ao monofiletismo de Leiuperinae, em relação ao posicionamento de *Pseudopaludicola falcipes*. Em análises prévias, o grupo é recuperado como monofilético (Pyron e Wiens, 2011; Fouquet *et al.*, 2013; De Sá *et al.*, 2014). No entanto, outros estudos também encontraram este terminal não relacionado aos demais leiuperídeos (e.g., Faivovich *et al.*, 2012). Uma das possibilidades a ser considerada é a atração de ramos longos envolvendo os terminais do gênero *Pseudopaludicola* e uma forma de contornar este problema seria inserir mais terminais do gênero na análise (Boris Blotto, comunicação pessoal). Nossa análise foi desenhada para estudar o relacionamento e evolução do gênero *Adenomera* e, por isso, não é um bom teste de monofiletismo da subfamília Leiuperinae comparado com outros estudos prévios envolvendo perguntas mais abrangentes que envolveram uma amostragem maior de terminais e caracteres. Por esta razão, a discussão de alguns caracteres será feita baseada no monofiletismo da subfamília Leiuperinae, ao invés de considerar o gênero *Pseudopaludicola* como um terminal basal em relação a todos os demais terminais do clado representado pela família Leptodactylidae.

O relacionamento dentro do gênero *Leptodactylus* é controverso na literatura. Nós não recuperamos o grupo de *L. pentadactylus* como monofilético com relação a *L. rhodomystax*, assim como Pyron e Wiens (2011), Fouquet *et al.* (2013) e ao contrário de

Ponssa (2008) e De Sá *et al.* (2014). Recuperamos o táxon *L. rhodomystax* na base do clado do gênero *Leptodactylus*, sendo irmão de todos os demais representantes do gênero, uma topologia muito similar daquela encontrada por Pyron e Wiens (2011) e Fouquet *et al.* (2013) na análise bayesiana. No entanto, no mesmo trabalho, Fouquet *et al.* (2013) recuperaram *L. rhodomystax* e *L. rhodonotus* na base do clado do grupo de *L. fuscus* numa análise de parcimônia. Numa análise de evidência total e com novas sequências adicionadas, De Sá *et al.* (2014) recuperam tanto *L. rhodomystax* quanto *L. rhodonotus* inseridos no clado do grupo de *L. pentadactylus*. Assim como Pyron e Wiens (2011), também não recuperamos o grupo de *L. melanonotus* como monofilético, ao contrário de Fouquet *et al.* (2013) e De Sá *et al.* (2014).

O relacionamento entre os grupos de espécies do gênero *Leptodactylus*, além da ressalva dos táxons supracitados, também é controverso. Diferentes topologias foram obtidas utilizando amostragens e métodos de otimização distintos. Como esperado, nossa análise resultou numa topologia que mais se assemelha àquela obtida por Fouquet *et al.* (2013) no que se refere ao relacionamento entre os grupos de espécies do gênero *Leptodactylus*, uma vez que a nossa amostragem de caracteres se assemelha muito daquela de Fouquet *et al.* (2013). No entanto, os únicos autores que utilizaram evidência total num estudo filogenético envolvendo o gênero *Leptodactylus* foram De Sá *et al.* (2005) e De Sá *et al.* (2014). A análise mais completa de táxons e de caracteres é aquela de De Sá *et al.* (2014) e, por isso, daremos ênfase na nossa discussão à topologia encontrada por estes autores sobre a evolução de alguns caracteres na família Leptodactylidae.

Nosso único terminal representante do gênero *Hydrolaetare* foi *H. dantasi* e este foi recuperado como grupo irmão do gênero *Leptodactylus*. Mas, o posicionamento filogenético

de *Hydrolaetare* é controverso. Fouquet *et al.* (2013) recupera o terminal *H. cf. caparu* como irmão do gênero *Leptodactylus* e Fouquet *et al.* (2014) recuperam o mesmo terminal dentro do clado de *Leptodactylus*, tornando-o parafilético. A fim de testar o impacto de dados fenotípicos numa análise filogenética envolvendo o gênero *Leptodactylus*, De Sá *et al.* (2014) conduziram uma análise de evidência total e uma apenas com evidência molecular. Na análise de evidência total, o gênero *Hydrolaetare* é recuperado como grupo irmão do gênero *Leptodactylus* e na análise filogenética com dados de DNA (mitocondrial e nuclear) os autores recuperaram o gênero *Hydrolaetare* dentro do gênero *Leptodactylus*, como grupo irmão de *L. melanonotus*, deixando o gênero *Leptodactylus* parafilético. No entanto, apesar desses autores levantarem dados moleculares do gênero *Hydrolaetare* para sua análise filogenética, os mesmos não codificaram os caracteres fenotípicos para o gênero na análise de evidência total.

O gênero *Hydrolaetare* foi descrito por Gallardo (1963) para acomodar a espécie *Limnomedusa schmidti* (Cochran and Goin, 1959). *Leptodactylus dantasi* foi descrito por Borkermann (1959) e alocado no grupo de *L. melanonotus* por Heyer (1970). Souza e Haddad (2003) realocaram a espécie *L. dantasi* para o gênero *Hydrolaetare* e apresentaram uma nova diagnose para o gênero: presença de projeções queratinizadas nas margens dos dedos. Numa análise cladística preliminar, Cassini *et al.* (em preparação) incluíram dados osteológicos do crânio de *H. schmidti* (dados extraídos de Lynch, 1971) na matriz fenotípica de Ponssa *et al.* (2008). Numa análise de evidência total onde dados moleculares também foram inseridos, o terminal representante do gênero *Hydrolaetare* é recuperado dentro do grupo de *L. melanonotus* (Cassini *et al.*, em preparação), como na análise filogenética baseada em evidências moleculares de De Sá *et al.* (2014). Assim, a validade do gênero *Hydrolaetare*

deve ser melhor avaliada com base num estudo envolvendo uma matriz de caracteres fenotípicos mais completa para o gênero.

A topologia encontrada dentro do gênero *Adenomera* não difere daquela encontrada por nós no capítulo anterior e por Fouquet *et al.* (2014). Apesar de recuperar uma topologia melhor resolvida com relação ao primeiro capítulo, os relacionamentos basais entre os clados Lutzi, Heyeri, Andreae e *Hylaedactyla* + Mata Atlântica apresentaram valores de suporte muito baixo de Jackknife (33% e 31%). O suporte encontrado do clado Marmorata Sul e do relacionamento das espécies que compõem o clado, também é menor do que aquele encontrado no primeiro capítulo, possivelmente devido à baixa amostragem de táxons na segunda análise.

A adição de uma matriz fenotípica não alterou a topologia da árvore e tampouco os suportes dos ramos envolvidos no gênero. Com uma matriz fenotípica maior, De Sá *et al.* (2014) conseguiram recuperar os grupos de espécies do gênero *Leptodactylus* como monofiléticos e encontraram valores mais altos de suporte dos ramos do gênero. Apesar de não alterar a topologia e suporte do gênero *Leptodactylus*, a adição de dados fenotípicos à matriz na análise filogenética nos permite propor de maneira empírica hipóteses de homologia, testar sinapomorfias e entender como ocorreu a evolução de certos caracteres dentro do grupo.

BIOACÚSTICA

A inclusão de caracteres acústicos na matriz fenotípica numa análise de evidência total nos permite inferir poucos padrões evolutivos dentro do grupo estudado. Nossos resultados mostraram que alguns parâmetros do canto de anúncio podem conter informação

filogenética na subfamília Leptodactilinae, assim como visto por Goicochea *et al.* (2010) em Strabomantidae e Erdtmann e Almézquita (2009) em Dendrobatidae. Estudos prévios já apontavam evidências de que as diferenças em parâmetros acústicos são de origem genética (Gerhardt, 1994), podendo refletir um padrão geográfico associado a divergências genéticas (Pröhl *et al.*, 2006). No entanto, Heyer e Reid (2003) não encontraram um padrão congruente entre variação genética e acústica em *L. fuscus*, pois as populações analisadas da espécie apresentaram grande estruturação filogenética ao longo da sua distribuição geográfica e pouca variação em parâmetros acústicos. Adicionalmente, Cannatella *et al.* (1998) não recuperaram as mesmas topologias de árvores quando inferiram as hipóteses filogenéticas a partir de fontes de evidências distintas (DNA e bioacústica).

Já foi demonstrado que a forma de codificação de caracteres pode influenciar fortemente na topologia da árvore obtida nas análises filogenéticas (Wiens, 2001; Goicochea *et al.*, 2010). Mas, além disso, é possível que a variabilidade dos caracteres e, conseqüentemente, a quantidade de informação filogenética recuperada a partir deles possa variar em diferentes níveis hierárquicos numa filogenia (Goicochea *et al.*, 2010). Assim, é importante levar em consideração que Goicochea *et al.* (2010) e Erdtmann e Almézquita (2009) analisam o relacionamento intra e intergenérico, enquanto Cannatella *et al.* (1998) analisaram o relacionamento dentro de um grupo de espécies (intra-genérico) e que Heyer e Reid (2003) analisaram o relacionamento intraespecífico.

Parâmetros acústicos definidos por estruturas anatômicas (mecanísticas) são mais conservados e contêm informações filogenéticas, ao contrário de parâmetros acústicos moldados e definidos de acordo com a fisiologia e comportamento social (McLister *et al.*, 2005; Robillard *et al.*, 2006). De fato, para o gênero *Adenomera* o caráter 29 (duração da

nota), que apresenta forte componente social e ambiental envolvido na sua produção (e consequentemente com alto coeficiente de variação; Gehardt, 1991), não apresentou nenhum padrão evolutivo evidente na árvore. Pudemos encontrar um padrão evolutivo quando otimizamos os valores contínuos em parâmetros estáticos como a frequência dominante e o ritmo de emissão da nota (caracteres 27 e 30, respectivamente). A frequência dominante e o ritmo de emissão da nota são parâmetros que apresentam baixos coeficientes de variação nas diferentes espécies de anuros, sendo muito utilizados nas diagnoses taxonômicas ao nível específico (Cocroft e Ryan, 1995). Ao otimizar estes caracteres contínuos na topologia da árvore obtida em nossa análise filogenética, estes parâmetros nos permitiram verificar uma mudança de valores no nó que define o gênero *Adenomera*, mas não entre as espécies que compõem este gênero.

Erdtmann e Amézquita (2009) também encontraram sinal filogenético na frequência dominante, apesar de terem codificado este caráter de maneira distinta de nós. Já Goicochea *et al.* (2010) encontraram muita homoplasia quando codificaram a frequência dominante de maneiras distintas. Sobre o caráter 2 (rápida modulação de amplitude na nota – pulsos), apesar de também ser um parâmetro de baixo coeficiente de variação, encontramos homoplasia dentro do gênero *Adenomera* com pelo menos quatro surgimentos independentes do canto não pulsionado. Ainda assim, foi possível inferir um ancestral com canto pulsionado. Neste aspecto, nossos resultados são concordantes com Goicochea *et al.* (2010), autores que também encontraram sinal filogenético neste parâmetro acústico. Assim como observado por Goicochea *et al.* (2010), mas contrariamente ao observado por Erdtmann e Amézquita (2009), a duração da nota não apresentou um padrão filogenético ao ser otimizada na topologia da árvore obtida. O mesmo podemos dizer sobre a modulação da

frequência na nota, que apesar de ser um parâmetro mecânico, não apresentou sinal filogenético forte, sendo bastante variável dentro de algumas espécies do gênero *Adenomera* (e.g., *A. marmorata*).

SINAPOMORFIAS

Como dito anteriormente, apesar da topologia e dos suportes dos ramos da árvore obtida por nós não mudarem após inserirmos caracteres fenotípicos na matriz de dados, este procedimento nos permitiu testar hipóteses de homologias e fazer inferências sobre a evolução morfológica e comportamental dentro da subfamília Leptodactylinae. Com base em caracteres osteológicos de adultos, Ponssa (2008) encontrou algumas sinapomorfias que suportam os ramos dos clados dos gêneros *Adenomera* e *Leptodactylus*, bem como os ramos dos clados de cada grupo de espécies do gênero *Leptodactylus*. Miranda *et al.* (no prelo) também encontraram sinapomorfias que suportam o gênero *Leptodactylus* e para os grupos de espécies do gênero com base em morfologia larval (cranial e oral). Apesar da nossa pequena matriz fenotípica de 30 caracteres, ao otimizar todos os estados de caracteres na topologia da árvore obtida em nossa análise filogenética, encontramos pelo menos uma sinapomorfia que suporta os clados Leptodactylinae e *Hydrolaetare* + *Leptodactylus*.

Ponssa (2008) encontrou cinco sinapomorfias osteológicas (duas homoplásticas e três não homoplásticas) que suportam o clado que define Leptodactylinae. Encontramos duas sinapomorfias não homoplásticas comportamentais que suportam o grupo: sítio de oviposição em ambiente terrestre (caráter 8, estado 1) e a presença de girinos que produzem espuma (caráter 13, estado 1).

Várias sinapomorfias têm sido encontradas para o gênero *Leptodactylus* em hipóteses filogenéticas prévias que incluíram evidências fenotípicas (Ponssa, 2008; De Sá *et al.*, 2014; Miranda *et al.*, no prelo). Quando otimizamos os caracteres fenotípicos da nossa matriz nas topologias obtidas por Ponssa (2008) e De Sá *et al.* (2014) a ausência de rápidas modulações no canto (pulsos; caráter 2, estado 0) é recuperada como uma sinapomorfia homoplástica do gênero *Leptodactylus* (presente também em *Adenomera*). No entanto, nenhuma análise filogenética incluiu dados morfológicos do gênero *Hydrolaetare* na amostragem dos terminais. Encontramos a presença de projeções queratinizadas na região medial dos dedos III e IV da mão (caráter 24, estado 1) como uma sinapomorfia não homoplástica que suporta o clado *Hydrolaetare* + *Leptodactylus*.

Até o presente trabalho, nenhum teste de homologia envolvendo caracteres fenotípicos havia sido conduzido e, portanto, não havia sinapomorfias propostas para o gênero *Adenomera*. A presença de girinos endotróficos que completam seu desenvolvimento dentro do ninho de espuma são características únicas presentes em algumas espécies de *Adenomera* (Heyer 1969a; b; Kokubum e Giaretta, 2005; De Sá *et al.*, 2014). Esta característica foi decomposta em mais de um caráter (caracteres 12, 13, 14 – ninho de espuma, produção de ninho de espuma pelo girino e dieta do girino, respectivamente). Quando otimizados, os estados de caracteres que deveriam refletir a particularidade de algumas espécies de *Adenomera* apresentaram girinos que se desenvolvem no ninho de espuma (estado 1 dos caracteres supracitados) não são recuperados como sinapomorfias que suporta o grupo, principalmente devido à falta de dados disponíveis de táxons basais: *A. lutzi* e *A. heyeri*. A presença do ninho de espuma e a de girinos endotróficos serão discutidas mais adiante.

No entanto, encontramos uma sinapomorfias homoplástica que suportam o gênero *Adenomera*: a presença de focinho espatulado (caráter 25, estado 1, homoplástico). O focinho espatulado é encontrado também em espécies do grupo de *Leptodactylus fuscus* e em *Hydrolaetare*. É provável que este estado de caráter não seja independente de construção de depressões ou câmaras subterrâneas para oviposição (caráter 10, estados 3 e 4) já que é sabido que a toca (câmara subterrânea) é construída através de pressão do focinho do macho contra o solo (Martins, 1988). Apesar da construção do ninho não ter sido observada diretamente pelos machos de *Adenomera* e *Hydrolaetare dantasi*, é hipotetizado que as espécies que apresentam o focinho espatulado constroem a toca de maneira semelhante a *L. fuscus*. No entanto, a otimização dos caracteres 10 e 22 (sítio de oviposição e focinho espatulado respectivamente), não são idênticas. Apesar dos terminais que apresentam sítio de oviposição em depressões construídas ou câmaras subterrâneas também apresentarem focinho espatulado, a grande quantidade de entradas faltantes na matriz do caráter 10 (sítio de oviposição) não nos permite inferir empiricamente a dependência destes dois caracteres.

A presença da glândula ectopeitoral em machos (caráter 22, estado 1) foi encontrada como uma sinapormorfia ambígua que pode ou suportar o gênero *Adenomera* ou *Adenomera* + *Lithodytes* (numa otimização lenta ou acelerada respectivamente). Contudo, não tivemos acesso a machos de *L. lineatus*; não pudemos ter certeza de como esse caráter otimiza na topologia da árvore.

Não se conhece sobre glândulas sexualmente dimórficas da pele em Leptodactylidae e não se conhece muito sobre essas glândulas em Anura, inclusive aquelas envolvidas no desenvolvimento do calo nupcial em machos, sendo a maior parte do nosso conhecimento limitado à família Hylidae (Brunetti *et al.*, 2012; no prelo; Luna *et al.*, 2012). A distribuição

taxonômica de macroglândulas sexualmente dimórficas (glândulas laterais e mentonianas) observadas em Cophomantini é complexa, com múltiplas aparições e perdas independentes dentro da tribo (Brunetti *et al.*, no prelo). Por outro lado, encontramos a glândula ectopeitoral em machos em todas as espécies de *Adenomera*, ainda que em diferentes graus de desenvolvimento, e não encontramos em outras espécies de Leptodactylidae (para espécies analisadas ver Apêndice 4). Devido à sua localização e à sua natureza dimórfica, a glândula ectopeitoral em *Adenomera* deve estar associada com comunicação química durante o amplexo.

Devido à sua natureza, tem sido sugerido que as glândulas sexualmente dimórficas desempenham um papel importante na atividade reprodutiva (Brizzi *et al.*, 2003). Infelizmente, apesar dessas inferências, a verdadeira função destas glândulas permanece desconhecida, com poucas exceções feitas às glândulas abdominais adesivas em *Gastrophryne carolinensis* (Conaway & Metter, 1967) e glândulas femorais produtoras de ferormônios em Mantellidae (Poth *et al.*, 2012). Possivelmente a deficiência de estudos nesta área se deve ao foco da biologia reprodutiva e comunicação entre anuros ser direcionada para sinais acústicos. Entretanto, alguns estudos já mostraram que muitas espécies utilizam outras modalidades de sinais para comunicação (i.e., visual, tátil, químico) e, na maioria dos casos, esses sinais interagem formando um sinal multimodal (Haddad & Giaretta, 1999; Amézquita & Hödl, 2004; Taylor *et al.*, 2011; Preininger *et al.*, 2013). Há algumas evidências comportamentais (Pearl *et al.*, 2000; Poth *et al.*, 2012) e químicas (Poth *et al.*, 2012; Willaert *et al.*, 2013) que reforçam a hipótese de que as glândulas sexualmente dimórficas da pele de anuros liberam sinais químicos associados à reprodução. Apesar de um aumento no interesse sobre a estrutura e ultraestrutura dessas glândulas (Vences *et al.*, 2007; Gonçalves & Brito-

Gitirana, 2008; Siegel *et al.*, 2008), o conhecimento de sua diversidade, distribuição taxonômica e evolução ainda é muito pobre (Brunetti *et al.*, 2012).

NINHO DE ESPUMA

A produção do ninho de espuma pelo casal em amplexo das espécies de Leiuiperinae e Leptodactylinae apresenta semelhanças nas estruturas e da mecânica envolvida na sua produção. De fato, todas as espécies da família Leptodactylidae produtoras de ninho apresentam a estrutura *pars convoluta dilatata* (Furness *et al.*, 2010) e fabricam a espuma através de movimentos de batimento das pernas dos machos concomitantemente ou logo após a liberação de oócitos maduros pela fêmea (Filho *et al.*, 2005; Altig e McDiarmid, 2007; Dalgetty e Kennedy, 2010). Ainda assim, não sabemos ainda a mecânica envolvida na produção da espuma pelos casais em amplexo do gênero *Adenomera*, apesar das espécies *L. lineatus* e *A. hylaedactyla* apresentarem a estrutura *pars convoluta dilatata* (Furness *et al.*, 2010).

Estudos prévios mostram que o ninho de espuma produzido pelo casal amplexante (caráter 12, estado 1), apareceu duas vezes independentemente na família Leptodactylidae (Grant *et al.* 2006; Ponssa, 2008; Pyron e Wiens, 2011; Faivovich *et al.*, 2012; De Sá *et al.*, 2014). No entanto, quando a subfamília Leiuiperinae é recuperada como irmã da subfamília Leptodactylinae, existe a possibilidade de que o ninho de espuma tenha aparecido apenas uma vez, como sinapomorfia do clado Leptodactylidae (Fouquet *et al.*, 2013). A otimização da presença de ninho de espuma (caráter 12, estado 1) na nossa hipótese filogenética da família Leptodactylidae é ambígua. Num primeiro cenário, com uma otimização rápida (ACCTRAN), a produção do ninho de espuma pelos pais aparece uma vez no nó Leiuiperinae

(exceto *Pseudopaludicola falcipes*) + Crossodactylodinae + Leptodactylinae e perdido em Crossodactylodinae. Na topologia obtida na análise de parcimônia por Fouquet et al. (2013), onde Crossodactylinae é recuperado como irmão de Leiuperinae + Leptodactylinae, este estado de caráter também otimiza de maneira ambígua, e numa otimização acelerada, o ninho de espuma também aparece apenas uma vez, mas é perdida em *Pseudopaludicola falcipes*.

Num segundo cenário, considerando uma otimização lenta (DELTRAN) ou, ainda, considerando a subfamília Leiuperinae monofilética, este estado de caráter é homoplástico com dois aparecimentos independentes do ninho de espuma: um no nó que agrupa os gêneros *Pleurodema* + *Engystomops* + *Physalaemus* (ou Leiuperinae) e outro no nó que define a subfamília Leptodactylinae, concordando com as otimizações nas topologias de Ponssa, 2008; Pyron e Wiens, 2011; Fouquet et al. (2013; otimização DELTRAN na topologia da árvore mais parcimoniosa e na da análise bayesina) e De Sá et al. (2014). A produção do ninho de espuma parece ser uma condição derivada em Leiuperidae, e por isso pleisiomórfica em *Pseudopaludicola* (Faivovich et al., 2012), reforçando a hipótese de dois aparecimentos independentes do ninho de espuma em Leptodactylidae.

Considerando as hipóteses filogenéticas de Frost et al. (2006), Grant et al. (2006) e Pyron e Wiens (2011), os modos reprodutivos que envolvem a construção de um ninho de espuma evoluíram pelo menos sete vezes durante a história evolutiva dos anuros, pelo menos uma vez nas famílias Microhylidae, Limnodynastidae, Rhacophoridae, Hiperoliidae, Hylidae e Leptodactylidae (com dois aparecimentos independentes, um em cada subfamília Leiuperinae e Leptodactylinae; ver revisão em Faivovich et al., 2012; Fouquet et al., 2013; De Sá et al., 2014). As principais hipóteses filogenéticas correntes de Anura (Frost et al., 2006; Pyron and Wiens, 2011) sugerem que em todas as famílias onde o ninho de espuma

ocorre em Hyloidea evoluíram a partir de uma condição onde o ninho era construído numa superfície aquática (Faivovich *et al.*, 2012). Já em Ranoidea, o aparecimento do ninho de espuma se deu de maneira distinta. Em duas famílias de Ranoidea (Hyperoliidae e Racophoridae) esse caráter evoluiu a partir de uma condição terrestre e na família Microhylidae, apesar de não ser muito claro, a oviposição em ambiente aquático deve ser pleisiomórfica e a terrestrialidade do ninho de espuma aumentou depois do surgimento de desenvolvimento endotrófico na família (Faivovich *et al.*, 2012).

Além do ninho de espuma produzido pelos pais, uma outra condição derivada é a manutenção do ninho de espuma pelos girinos em algumas espécies do gênero *Leptodactylus* e *Adenomera* (Downie, 1989; Almeida e Angulo, 2002; Ponssa e Barrionuevo, 2008; Giaretta *et al.*, 2011). Em *L. fuscus*, o casal amplexante desova e produz uma espuma através de batimentos da perna do macho (Oliveira Filho *et al.*, 2005). Após eclosão dos ovos, já foi demonstrado a capacidade dos girinos de algumas espécies de produzirem espuma e garantir a manutenção do ninho até que completem seu desenvolvimento no próprio ninho (no caso de algumas espécies de *Adenomera*) ou até que possam ser conduzidos para um corpo d'água mais próximo para completar seu desenvolvimento (Caldwell e Lopez, 1989; Almeida e Angulo, 2002; Giaretta e Kokubum, 2004; Kokubum e Giaretta, 2005; Kokubum e Souza, 2008; Ponssa e Barrionuevo, 2008; Menin *et al.*, 2009).

Uma alta atividade das glândulas mucosas no tecido epitelial na região ventral do velum e na região posterior do teto bucal foi detectada em girinos de *Adenomera hylaedactyla*, *L. fuscus*, *L. furnarius* e *L. labyrinthicus* (Downie, 1989; Giaretta *et al.*, 2011) e a capacidade de produção de ninho de espuma pelos girinos foi detectada em quatro espécies: *A. hylaedactyla*, *A. thomei*, *L. mystraceus* e *L. latinasus* (Caldwell & Lopez 1989;

Almeida e Angulo, 2002; Ponssa e Barrionuevo, 2008). A maneira de como se dá a produção do ninho de espuma pelos girinos é semelhante em todas as espécies: o girino realiza movimentos sincronizados com a cabeça e a cauda e libera bolhas através da boca (Downie, 1989; Kokubume Giaretta, 2005; Ponssa e Barrionuevo, 2008; Menin *et al.*, 2009). No entanto, no gênero *Adenomera* o comportamento de produção de ninho é realizado até quase a metamorfose (estágio 35 e 42; Gosner, 1960) (Kokubum & Giaretta 2005; Menin *et al.*, 2009) enquanto que em *L. fuscus* e *L. latinasus* a produção de espuma é feita até no máximo o estágio 29 (Downie, 1989; Ponssa e Barrionuevo, 2008).

Downie (1989) sugeriu que, além da atividade da glândula mucosa bucal, a produção do ninho de espuma pelo girino pode apresentar um fator comportamental. Isto porque o autor verificou que um girino isoladamente não é capaz de produzir espuma (e conseqüentemente não sobrevive), pois não consegue manter a atividade de movimentação sincronizada para produzir bolhas estáveis suficientes. Além disso, as glândulas mucosas bucais também são encontradas, embora em atividade muito reduzida, em espécies que não fabricam ninho de espuma (e.g. *Rhinella granulosa* e *Mannophryne trinitatis*) e são usadas para aprisionar alimento na água ou acumular muco para prevenir contra dessecação (Downie, 1989). No entanto, mais estudos sobre a fisiologia e comportamento sobre a produção de espuma por girinos são necessários para que possamos levantar melhores propostas de homologias.

Apesar da falta de rigor amostral, Giaretta *et al.* (2011) sugerem um táxon não ranqueado, Spumoranuncula, para definir um suposto clado composto por espécies dos gêneros *Leptodactylus* e *Adenomera* que apresentam espécies com girinos capazes de produzir espuma de maneira homóloga. Esta proposta foi rejeitada por Fouquet *et al.* (2013)

e De Sá *et al.* (2014) por considerarem que a capacidade de produção de espuma pelos girinos das espécies de *Adenomera* e do grupo de espécies de *L. fuscus* homoplástico. No entanto, quando otimizamos este caráter nas árvores de Fouquet *et al.* (2013) e De Sá *et al.* (2014), este estado de caráter é recuperado sem ambiguidade, como sinapomorfia que suporta o clado de Leptodactylinae. Este mesmo resultado foi observado na topologia da nossa hipótese filogenética.

Nas topologias de Ponssa (2008) e Pyron e Wiens (2011), a presença de girinos capazes de produzir espuma no ninho é otimizada de maneira ambígua. Nestas propostas filogenéticas, numa otimização acelerada (ACCTRAN) a presença de girinos capazes de produzir espuma é recuperada como uma sinapomorfia que suporta o nó que agrupa todos os Leptodactylinae (assim com encontrado neste estudo), e numa otimização mais lenta (DELTRAN) é recuperada como dois aparecimentos independentes: uma no nó que agrupa as espécies do grupo de *L. pentadactylus* + *L. fuscus* e outra no nó que agrupa os clados Andreae + Hylaedactyla + Mata Atlântica. Dessa maneira, o táxon proposto, Spumoranuncula (Giaretta *et al.*, 2011), apesar de não raqueado, é sinônimo compelto de Leptodactylinae de acordo com todas as topologias propostas até o momento; exceto por Ponssa (2008) e Pyron e Wiens (2011), que otimizam a presença de girinos capazes de produzir espuma (caráter 13, estado 1) de maneira ambígua no nó do clado Leptodactylinae.

DIETA DOS GIRINOS

O aparecimento de girinos endotróficos nidícolas ocorreu algumas vezes de maneira independente na história evolutiva dos anuros em pelo menos uma vez em cada uma das seguintes famílias: Mantellidae, Bufonidae, Dendrobatidae, Hemiphractidae,

Limnodynastidae, Leiopelmatidae, Leptodactylidae, Alsodidae e Microhylidae (McDiarmid e Altig, 1999; Wells, 2007; Vera Candiotti *et al.*, 2011). No entanto, a presença de girinos endotróficos em ninho de espuma construído debaixo de objetos ou em câmaras subterrâneas parece ter surgido duas vezes independentemente, sendo conhecido apenas nas famílias Microhylidae, em *Stumpffia pygmaea* (Glaw e Vences, 1994), e Leptodactylidae, em algumas espécies do gênero *Adenomera* (Heyer 1969a; b; Heyer *et al.*, 1990; Kokubum e Giaretta, 2005; Menin *et al.*, 2009; Menin e Rodrigues, 2013). Apesar de ambas terem sido enquadradas no mesmo modo reprodutivo 32 (Haddad e Prado, 2005) por Wells (2007), os modos reprodutivos destes dois grupos apresentam diferenças. Há evidências de que o macho de *S. pygmaea* constrói o ninho de espuma no folhiço da mata previamente ao amplexo, onde permanece vocalizando (Glaw e Vences 1994). Já nas espécies de *Adenomera*, a câmara subterrânea é construída pelo macho previamente ao amplexo, que permanece próximo à entrada da toca construída vocalizando (Kok *et al.*, 2007; Célio Haddad, comunicação pessoal). Apesar de não ter sido ainda observado no gênero *Adenomera*, o ninho de espuma parece ser construído pelo casal durante o amplexo e pouco antes ou concomitantemente à oviposição (Kok *et al.*, 2007).

A presença facultativa de girinos endotróficos que compeltam seu desenvolvimento no ninho de espuma tem sido recorrentemente apontada como uma característica do gênero *Adenomera* (Heyer, 1969; Kokubum e Giaretta, 2005; Fouquet *et al.*, 2013; 2014; De Sá *et al.*, 2014). Três espécies do gênero apresentam morfologia de girinos exotróficos, semelhantes àqueles observados nas espécies do grupo de *L. fuscus*: *A. dyptix*, *A. thomei* e *A. saci* (De la Riva, 1995; Almeida e Angulo, 2006; Carvalho e Giaretta, 2013). Sabemos que *A. marmorata*, *A. bokermanni*, *A. hylaedactyla* e *A. andreae* apresentam girinos endotróficos

(presente estudo; Heyer, 1969a; Heyer *et al.*, 1990; Menin *et al.*, 2009; Menin e Rodrigues, 2013). Há evidências que a espécie *A. sp. N* também apresente girinos endotróficos devido à quantidade de ovos e girinos encontrados nas câmaras subterrâneas, a quantidade de vitelo presente nos ovos da espécie e ao estágio de desenvolvimento avançado dos girinos encontrados (Cassini, observações pessoais).

Devido aos muitos dados ausentes na nossa matriz para o caráter “dieta dos girinos” (caractere 14), a presença de girinos endotróficos (estado 1) aparece otimizada de maneira ambígua em três ramos da árvore (nos clados *Andreae*, *A. hylaedactyla* + *A. coca* e *Marmorata*). Dentro das limitações de amostragem, a distribuição na matriz da presença de girinos endotróficos na topologia da nossa árvore aparece otimizada de forma acelerada (ACCTRAN) como homoplástico, com três aparecimentos independentes: um no nó que define o clado *Andreae*, outro no nó do clado *A. hylaedactyla* + *A. coca* e um terceiro aparecimento no nó do clado *Marmorata*. Se *A. lutzi* e *A. heyeri* apresentam girinos endotróficos, este estado de caráter otimiza de maneira não ambígua e homoplástica, aparecendo primeiramente no nó que define o gênero *Adenomera*, perdido no nó que define o clado *Hylaedactyla* + *Mata Atlântica*, e posteriormente com dois surgimentos secundários e independentes na espécie *A. hylaedactyla* e no nó que define o clado *Marmorata*. De qualquer modo, nossa análise aponta para pelo menos dois aparecimentos secundários independentes do girino endotrófico dentro do gênero *Adenomera*. Mais estudos são necessários para determinar se os aparecimentos secundários da endotrofia em *Adenomera* são acompanhados também por modificações no desenvolvimento. Dados de desenvolvimento detalhados existem para poucos anuros (Thibaudeau and Altig, 1999;

Callery *et al.*, 2001; Desnitskiy, 2004) e são completamente ausentes para o gênero *Adenomera*.

EM BUSCA DA TERRESTRIALIDADE?

Vários autores sugeriram a evolução em direção à terrestrialidade na subfamília Leptodactylinae (Martin, 1967, 1970; Heyer, 1969; Prado *et al.*, 2002), num cenário onde as espécies do grupo de *L. latrans* e *L. melanonotus* apresetariam modos reprodutivos mais basais, por serem mais associados ao ambiente aquático e as espécies do grupo *L. fuscus* e do gênero *Adenomera* apresentariam modos reprodutivos mais derivados por estarem mais associados ao ambiente terrestre. No entanto, é consenso em todos os trabalhos prévios que tratam da filogenia de Leptodactylinae que *Adenomera* + *Lithodythes* formam um clado irmão de *Hydrolaetare* + *Leptodactylus*. Nesta topologia, não cabe um cenário de incremento de caracteres em direção à independência do ambiente aquático, como sugerido previamente na literatura. No entanto, o caminho em busca da conquista terrestre dentro de cada clado (*Lithodythes* + *Adenomera* e *Hydrolaetare* + *Leptodactylus*) ainda é hipotetizado, mas não discutido a fundo em literatura.

Como as principais hipóteses de relacionamentos entre os grupos de espécies do gênero *Leptodactylus* propostas até o momento diferem entre si (De Sá *et al.*, 2005; Ponssa, 2008; Pyron e Wiens, 2011; Fouquet *et al.*, 2013; De Sá *et al.*, 2014), os estados dos caracteres envolvidos no entendimento da evolução dos modos reprodutivos no grupo otimizam de maneiras distintas. Nas hipóteses filogenéticas de Ponssa (2008), Fouquet *et al.* (2013) e De Sá *et al.* (2014), o caráter “sítio de vocalização” (caráter 7) otimiza de forma ambígua no nó que define o gênero *Leptodactylus*. Numa otimização acelerada (ACCTRAN)

na topologia de Ponssa (2008) o comportamento dos machos de vocalizar em depressões naturais no solo (caráter 7, estado 4) aparece como sinapomorfia do gênero *Leptodactylus*, enquanto na topologia de de Sá et al. (2014) este estado aparece no clado que define os grupos de espécie de *L. latrans* + *L. podicipinus* + *L. pentadactylus*. Na nossa hipótese filogenética a otimização deste caráter recupera a vocalização de machos em depressões no solo como uma sinapomorfia não homoplática e não ambígua que suporta o nó que define o gênero *Leptodactylus*, assim como na topologia obtida por Pyron e Wiens (2011).

O sítio de oviposição em ambiente terrestre (caráter 8, estado 1) otimiza de maneira ambígua no nó da subfamília Leptodactylinae de acordo com a nossa topologia, bem como na topologia encontrada por De Sá et al. (2014). Isto se deve ao fato de desconhecemos o estado deste caráter em *Hydrolaetare* e *Lithodythes*. Potencialmente, as espécies do gênero *Hydrolaetare* depositam seus ovos em ambiente aquático (Souza e Haddad, 2003) e *Lithodythes lineatus* em ambiente terrestre (Lamar e Wild, 1995). Ainda assim, se este for o caso, o caráter “sítio de oviposição” seria otimizado de maneira ambígua por conflito de informação. Ponssa (2008) recupera o clado composto pelos grupos de espécies de *L. latrans* + *L. melanonotus* como sendo um clado basal, irmão das demais espécies de *Leptodactylus*. Assim, nesta última topologia, o sítio de oviposição em ambiente terrestre seria um estado sinapomórfico no nó do clado que representa a família Leptodactylinae numa otimização acelerada. Nesta mesma topologia, numa otimização lenta, o sítio de oviposição em ambiente aquático (caráter 8, estado 0) é simplesiomórfico na subfamília Leptodactylinae e o sítio de oviposição em ambiente terrestre tem dois surgimentos independentes: um no nó que define os grupos de *L. fuscus* + *L. pentadactylus* e outro no nó que define o gênero *Adenomera*.

Dentro do clado que agrupa os gêneros *Lithodythes* e *Adenomera* também foi sugerido o incremento no nível de terrestrialidade (Faivovich *et al.*, 2012). Isso porque o grupo apresenta construção de ninhos em câmaras ao lado de lagos (Lamar e Wild, 1995) ou dentro de ninhos de formigas do gênero *Atta* (Schluter *et al.*, 2009), ninhos que são inundados e os girinos exotróficos finalizam seu desenvolvimento em ambiente aquáticos maiores (De la Riva, 1995), e ninhos contendo girinos endotróficos onde completam todo o seu desenvolvimento (Kokubumand Giaretta, 2005; Menin *et al.*; 2009; Menin e Rodrigues, 2013). No entanto, estados de caracteres mais independentes do ambiente aquático supracitados (sítio de vocalização no folhíço – caráter 7, estado 3, sítio de oviposição em ambiente terrestre – caráter 8, estado 1; e a presença do ninho de espuma – caráter 12, estado 1) todos otimizam de maneira não ambígua no nó do clado de *Adenomera*, sendo portanto, simpleisiomórficos (caráter 7, estado 3 ACCTTRAN) ou pleisiomórfico dentro do gênero.

A presença de girinos capazes de produzirem espuma no ninho (caráter 13, estado 1) e a presença de girinos endotróficos (caráter 14, estado 1) também podem indicar uma maior independência do ambiente aquático para o grupo. Como discutido anteriormente, a presença de girinos capazes de produzir espuma no ninho é uma sinapomorfia que suporta o clado de Leptodactylinae; portanto, um estado pleisiomórfico dentro dos gêneros *Leptodactylus* e *Adenomera*. Adicionalmente, apesar da grande quantidade de dados faltantes principalmente na base da árvore do gênero *Adenomera*, temos evidências de que houve pelo menos dois aparecimentos secundários independentes do girino endotrófico dentro do grupo (discutido anteriormente). O conhecimento da história natural de *A. lutzi* e *A. heyeri* são fundamentais para que possamos entender melhor a evolução de caracteres relacionados a *Adenomera* e podermos inferir os caracteres ancestrais do gênero. Por isso, apesar da falta de dados na

distribuição do estado do caráter presença de girinos endotróficos na matriz fenotípica, não parece haver uma história evolutiva direcionada à terrestrialidade na história do grupo *Lithodythes* + *Adenomera*, pois todos os demais estados “mais terrestres” são pleisiomórficos ou simplesiomórficos para o grupo.

Nossos resultados mostram que a evolução do modo reprodutivo em Leptodactylinae não apresenta uma clara tendência linear em direção à terrestrialidade. De maneira geral, de acordo com a distribuição dos estados de caracteres analisados, as hipóteses filogenéticas correntes que envolvem a família Leptodactylidae (Pyron e Wiens, 2011; Fouquet *et al.*, 2013; De Sá *et al.*, 2014) reconstroem a mesma otimização dos caracteres relacionados aos modos reprodutivos em Leptodactylinae. Tanto o sítio de vocalização, o sítio de oviposição e a capacidade de produção de espuma pelo girino apresentam estados mais independentes do ambiente aquático como estados pleisiomórficos ou simplesiomórficos na subfamília. A topologia que mais favorece a hipótese de direcionamento evolutivo do modo reprodutivo à terrestrialidade em *Leptodactylus* é aquela obtida por Ponssa (2008). Ainda assim, nessa topologia, os caracteres são otimizados de maneira ambígua, não sendo rejeitada a hipótese de um estado terrestre mais pleisiomórfico numa otimização acelerada (ACCTRAN).

CONCLUSÕES

SINAPOMORFIAS

Após uma análise de evidência total obtivemos uma árvore mais parcimoniosa, que apresentou uma topologia na qual pudemos encontrar as sinapomorfias que suportam os seguintes grupos:

- *Leptodactylinae*:
 - * Sítio de oviposição em ambiente terrestre (caráter 8, estado 1), não homoplástico.
 - * Presença de girinos capazes de produzir espuma (caráter 13, estado 1), não homoplástico.
- *Leptodactylus* + *Hydrolaetare*:
 - * Presença de projeções queratinizadas na região medial dos dedos III e IV da mão (caráter 24, estado 1), não homoplástico.
- *Leptodactylus*:
 - * Sítio de vocalização em depressões naturais (caráter 7, estado 4), não homoplástico.
- *Adenomera* + *Lithodythes*:
 - * Extremidade distal dos artelhos III e IV expandidos (caracteres 17 e 18, respectivamente, ambos estados 1), homoplástico. Este estado é encontrado também em *Crossodactylodes itambe*.

- *Adenomera*:
 - * Presença do focinho espatulado (caráter 25, estado 1), homoplástico. Este estado é encontrado também no grupo de *Leptodactylus fuscus* e em *Hydrolaetare*.
- Clado Hylaedactyla + Mata Atlântica:
 - * Extremidade distal do artelho II não expandido (caráter 16, estado 0), homoplástico, com múltiplos surgimentos independentes.
- Clado Marmorata:
 - * Presença de girinos endotróficos (caráter 14, estado 1), homoplástico. Este estado de caráter também está presente nas espécies *A. andreae* e *A. hylaedactyla*.

EVOLUÇÃO DE CARACTERES

- A topologia da nossa árvore não suporta a hipótese da conquista gradual do meio terrestre. Na família Leptodactylidae, a independência do meio aquático não se deu de maneira gradual, num cenário onde quanto mais dependente do ambiente aquático mais basal é o grupo. Alguns estados de caracteres que denotam uma maior independência da água (e.g., sítio de vocalização em depressões naturais; sítio de oviposição em ambiente terrestre, girinos capazes de produzir espuma) são simplesiomórficos na família Leptodactylidae.
- Em *Adenomera*, a presença de girinos endotróficos é simplesiomórfica ou não a depender dos estados deste caráter em *A. lutzi* e *A. heyeri* e apareceu pelo menos duas vezes independentemente no gênero. Como as espécies de *Adenomera* que

apresentam girinos exotróficos não são as mais basais no gênero, a conquista em direção ao meio terrestre também não se deu de maneira gradual no gênero.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcaide, M. F., E. O. Lavilla, and A. P. Alcaide. 2009. Histology and histochemistry of the albumin glands in some foam-nesting anurans. *South American Journal of Herpetology* 4, 151–163.
- Almeida, A. d. P., and A. Angulo. 2002. *Adenomera* aff. *marmorata* reproduction. *Herpetological Review* 33, 197–198.
- Almeida, A. d. P., and A. Angulo. 2006. A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the state of Espírito Santo, Brazil, with remarks on the systematics of associated populations. *Zootaxa*. 1334, 1–25.
- Altig, R., and G. F. Johnston. 1971. Guilds of anuran larvae; relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. *Herpetological Monographs* 3, 81–109.
- Altig, R., and R. W. McDiarmid. 2007. Morphological diversity and evolution of egg and egg-clutch structure in amphibians. *Herpetological Monographs*. 21: 1–32.
- Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers and D. J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 215: 403–410.
- Amézquita, A., and W. Hödl. (2004). How, when and where to perform visual displays: the case of the Amazonian frog *Hyla parviceps*. *Herpetologica*. 6: 420–429.
- Amiet, J. L. 1974. La ponte et la larve de *Opisthoxylax immaculatus* Boulenger (Amphibien Anoure). *Annales de la Faculté Sciences du Cameroun*. 17: 121–130.

- Amiet, J. L. 1991. Images d'Amphibiens camerounais. IV. Les constructeurs de nids. *Alytes*. 9: 71–77.
- Angulo, A., R. B. Cocroft, and S. Reichle. 2003. Species identity in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Peru. *Herpetologica*. 59: 490–504.
- Angulo, A., and J. Icochea. 2010. Cryptic species complexes, widespread species and conservation: lessons from Amazonian frogs of the *Leptodactylus marmoratus* group (Anura: Leptodactylidae). *Systematics and Biodiversity*. 8: 357 – 370.
- Angulo, A., and S. Reichle. 2008. Acoustic signals, species diagnosis, and species concepts: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 152: 59–77.
- Bickford, D., D. J. Lohman, N. S. Sodhi, P. K. L. Ng, R. Meier, K. Winker, K. K. Ingram, and I. Das. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*. 22: 148–155.
- Boistel, R., J.–C. Massary and A. Angulo. 2006. Description of a new species of the genus *Adenomera* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from French Guiana. *Acta Herpetologica*. 1: 1–14.
- Bokermann, W. C. A. 1959. Una nueva especie de *Leptodactylus* de la region Amazonica (Amphibia, Salientia, Leptodactylidae). *Neotropica*. La Plata 5: 5–8.
- Brandão, R. A., and W. R. Heyer. 2005. The complex calls of *Leptodactylus pustulatus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Amphibia–Reptilia*. 26: 566–570.

- Brizzi R., G. Delfino, and S. Jantra. 2003. An overview of breeding glands. *In*: Jamieson BGM, editor. *Reproductive Biology and Phylogeny of Anura*. Enfield, New Hampshire: Science Publishers, Incorporated. pp 253–317.
- Brodie, E. D., III. 2011. Patterns, process, and the parable of the coffeepot incident: arms races between newts and snakes from landscapes to molecules. pp 93–120 *in*: J. B. Losos (ed.) *In the light of evolution: essays from the laboratory and field*, Roberts and Company, Greenwood Village, CO.
- Brunetti A. E., J. Faivovich, and G. N. Hermida. 2012. New insights into sexually dimorphic skin glands of anurans: the structure and ultrastructure of the mental and lateral glands in *Hypsiboas punctatus* (Amphibia: Anura: Hylidae). *Journal of Morphology*. 273: 1257–1271.
- Brunetti A. E., G. N. Hermida, M. C. Luna, A. M. G. Barsotti, C. Jared, M. M. Antoniazzi, M. Rivera–Correa, B. V. M. Berneck, and J. Faivovich. No prelo. Diversity and evolution of sexually dimorphic mental and lateral glands in Cophomantini treefrogs (Anura: Hylidae: Hylinae). *Biological Journal of the Linnean Society*.
- Caldwell, J. P., and P. T. Lopez. 1989. Foam–generating behavior in tadpoles of *Leptodactylus mystaceus*. *Copeia*. 1989: 498–502.
- Callery, E. M., H. Fang, and R. P. Elinson. 2001. Frogs without polliwogs: evolution of anuran direct development. *Bioessays*. 23: 233–241.
- Cannatella, D. C., D. M. Hillis, P. T. Chippindale, L. Weigt, A. S. Rand, and M. J. Ryan. 1998. Phylogeny of frogs of the *Physalaemus pustulosus* species group, with an examination of data incongruence. *Systematic Biology*. 47: 311–335.

- Carvalho, T. R. d., and A. A. Giaretta. 2013a. Bioacoustics reveals two new syntopic species of *Adenomera* Steindachner (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) in the Cerrado of central Brazil. *Zootaxa*. 3731: 533–551.
- Carvalho, T. R. d., and A. A. Giaretta. 2013b. Taxonomic circumscription of *Adenomera martinezi* (Bokermann, 1956) (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) with the recognition of a new cryptic taxon through a bioacoustic approach. *Zootaxa*. 3701: 207–237.
- Cassini, C. S., C. A. G. d. Cruz, and U. Caramaschi. 2010. Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa*. 2491.
- Cassini, C. S., V. G. D. Orrico, I. R. Dias, M. Solé, and C. F. B. Haddad. 2013. Phenotypic variation of *Leptodactylus cupreus* Caramaschi, São–Pedro and Feio, 2008 (Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa*. 3616: 73–84.
- Cochran D. M., and C. J. Goin. 1959. A new frog of the genus *Limnomedusa* from Colombia. *Copeia*. 1959: 208–210.
- Cocroft, R. B. and M. J. Ryan. 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Animal Behaviour*. 49: 283–303.
- Coe, M. 1974. Observations on the ecology and breeding biology of the genus *Chiromantis* (Amphibia: Rhacophoridae). *Journal of Zoology*. 172: 13–34.

- Conaway, C. H., and D. E. Metter. 1967. Skin glands associated with breeding in *Microhyla carolinensis*. *Copeia*. 3: 672–673.
- Dalgetty, L., and M. W. Kennedy. 2010. Building a home from foam—túngara frog foam nest architecture and three-phase construction process. *Biology Letters*. 6: 293–296.
- de la Riva, I. 1995. A new reproductive mode for the genus *Adenomera* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae): Taxonomic implications for certain Bolivian and Paraguayan populations. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. 30: 15–29.
- de Sá, R. O., W. R. Heyer, and A. Camargo. 2005. A phylogenetic analysis of *Vanzolinius* Heyer, 1974 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae): Taxonomic and life history implications. *Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro*. 63: 707–726.
- de Sá, R. O., R. Brandão, and L. D. Guimarães. 2007. Description of the tadpole of *Leptodactylus pustulatus* Peters, 1870 (Anura: Leptodactylidae). *Zootaxa*. 1523: 49–58.
- de Sá, R. O., T. Grant, A. Camargo, W. R. Heyer, M. L. Ponssa, and E. Stanley. 2014. Systematics of the Neotropical Genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae): Phylogeny, the relevance of non-molecular evidence, and species accounts. *South American Journal of Herpetology*. 9: S1–S100.
- Desnitskiy, A. G. 2004. Evolutionary transformations of ontogenesis in anuran amphibians. *Russian Journal of Developmental Biology*. 35: 125–130.

- Domenico, E. A., C. F. B. Haddad and H. Zaher. 2014. Natural history of *Paratelmatobius gaigeae* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae): description of the tadpole and advertisement call. *Journal of Herpetology*. 48: 430–433.
- Downie, J. R. 1989. Observations on foam-making by *Leptodactylus fuscus* tadpoles. *Herpetological Journal*. 1: 351–355.
- Duellman, W. E. 1997. Amphibians of La Escalera region, southeastern Venezuela: taxonomy, ecology, and biogeography. *Scientific Papers, Natural History Museum, University of Kansas*. 2: 1–52.
- Duellman, W. E. and L. Trueb. 1994. *Biology of Amphibians*. McGraw–Hill Book. New York.
- Erdtmann, L., and A. Amézquita. 2009. Differential evolution of advertisement call traits in dart-poison frogs (Anura: Dendrobatidae). *Ethology*. 115: 801–811.
- Eterovick, P. C., and I. Sazima. 2000. Description of the tadpole of *Leptodactylus syphax*, with a comparison of morphological and ecological characters of tadpoles and adults of the species in the *L. pentadactylus* group (Leptodactylidae, Anura). *Amphibia–Reptilia*. 21: 341–350.
- Faivovich, J., C. F. B. Haddad, P. C. A. Garcia, D. R. Frost, J. A. Campbell and W. C. Wheeler. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylineae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 294: 1–240.

- Faivovich, J., D. P. Ferraro, N. G. Basso, C. F. B. Haddad, M. T. Rodrigues, W. C. Wheeler, and E. O. Lavilla. 2012. A phylogenetic analysis of *Pleurodema* (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) based on mitochondrial and nuclear gene sequences, with comments on the evolution of anuran foam nests. *Cladistics*. 28: 460–482.
- Farris, J. S. 1970. Methods for computing Wagner trees. *Systematic Zoology*. 19: 83–92.
- Farris, J. S. 1990. Phenetics in camouflage. *Cladistics*. 6: 91–100.
- Fouquet, A., A. Gilles, M. Vences, C. Marty, M. Blanc, and N. J. Gemmell. 2007. Underestimation of species richness in Neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. *PLOS ONE*. 2: e1109.
- Fouquet, A., M. Dewynter, P. Gaucher, M. Blanc, C. Marty, M. T. Rodrigues and R. Ernst. 2011. New records and geographic distribution map of *Adenomera heyeri* Boistel, de Massary and Angulo, 2006 (Anura: Leptodactylidae). *Check List*. 7: 601–605.
- Fouquet, A., B.L. Blotto, M.M. Maronna, V. K. Verdade, F. A. Juncá, R. O. de Sá, and M.T. Rodrigues. 2013. Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 67: 445–457.
- Fouquet, A., C. S. Cassini, C. F. B. Haddad, N. Pech, and M. T. Rodrigues. 2014. Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Biogeography*. 41: 855–870.

- Frost, D. R., T. Grant, J. Faivovich, R. H. Bain, A. Haas, C. F. B. Haddad, R. O. de Sá, A. Channing, M. Wilkinson, S. C. Donnellan, et al. 2006. The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 297: 1–370.
- Frost, D. 2014. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (*Date of access*). Electronic database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Frost, D. R., and D. M. Hillis. 1990. Species in concept and practice: herpetological applications. *Herpetologica*. 46: 87–104.
- Funk, W. C., M. Caminer, and S. R. Ron. 2012. High levels of cryptic species diversity uncovered in Amazonian frogs. *Proceedings of the Royal Society B*. in press: no–no.
- Furness, A. I., R. W. McDiarmid, W. R. Heyer, and G. R. Zug. 2010. Oviduct modifications in foam-nesting frogs, with emphasis on the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *South American Journal of Herpetology*. 5: 13–29.
- Gallardo, J. M. 1963. *Hydrolaetare*, nuevo genero de Leptodactylidae (Amphibia) neotropical. *Neotropica*. 9: 42–48.
- Garcia, P. C. A., B. v. M. Berneck and C. O. R. Costa. 2009. A new species of *Paratelmatobius* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from Atlantic rain forest of southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology*. 4: 217–224.
- Gerhardt, H. C. 1991. Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Animal Behavior*. 42: 615–635.

- Gerhardt, H. C. 1994. The evolution of vocalization in frogs and toads. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 25: 293–324.
- Giaretta, A. A., and M. Kokubum. 2004. Reproductive ecology of *Leptodactylus furnarius* Sazima & Bokermann, 1978 a frog that lay eggs in underground chambers (Anura, Leptodactylidae). *Herpetozoa*. 16: 115–126.
- Giaretta, A. A., and L. Magrini. 2013. Calls of *Paratelmatobius gaigeae* (Cochran 1938) (Anura, Leptodactylidae). *Herpetology Notes*. 6: 171–176.
- Giaretta, A. A., L. B. Martins, and M. P. dos Santos. 2009. Further notes on the taxonomy of four species of *Physalaemus* (Anura, Leiuperidae) from the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *Zootaxa*. 2266: 51–60.
- Giaretta, A. A., F. G. De Freitas, M. M. Antoniazzi, and C. Jared. 2011. Tadpole buccal secretory glands as new support for a Neotropical clade of frogs. *Zootaxa*. 3011: 38–44.
- Gibson, R. C., and K. R. Buley. 2004. Maternal care and obligatory oophagy in *Leptodactylus fallax*: a new reproductive mode in frogs. *Copeia*. 2004: 128–135.
- Glaw, F. and M. Vences. 1991. Bioacoustic differentiation in painted frogs (*Discoglossus*). *Amphibia–Reptilia* 12: 385–394.
- Glaw, F. 1994. A field guide to the amphibians and reptiles of Madagascar, 2nd edn. Vences and Glaw Verlag, Cologne.
- Goicoechea, N., I. de la Riva and J. P. Padial. 2010. Recovering phylogenetic signal from frog mating calls. *Zoologica Scripta*. 39: 141–154.

- Goloboff, P. 1993. Character optimization and calculation of tree lengths. *Cladistics*. 9: 433–436.
- Goloboff, P. 1999. Analyzing large data sets in reasonable times: solutions for composite optima. *Cladistics*. 15: 415–428.
- Goloboff, P., C. Mattoni., and A. S. Quinteros. 2006. Continuous characters analyzed as such. *Cladistics*. 22: 589–601.
- Goloboff, P., J. S. Farris, and K. C. Nixon. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*. 24: 774–786.
- Gonçalves, V. F., and L. d. Brito–Gitirana. 2008. Structure of the sexually dimorphic gland of *Cycloramphus fuliginosus* (Amphibia, Anura, Cycloramphidae). *Micron*. 39: 32–9.
- Gosner, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*. 16: 183–190.
- Grant, T., and A. Kluge. 2003. Data exploration in phylogenetic inference: scientific, heuristic, or neither. *Cladistics*. 19: 379–418.
- Grant, T., D. R. Frost, J. P. Caldwell, R. Gagliardo, C. F. B. Haddad C., P. J. R. Kok, et al. 2006. Phylogenetic systematics of dart–poison frogs and their relatives (Anura: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 299: 1–262.
- Gridi–Papp, M., A. S. Rand, and M. J. Ryan. 2006. Complex call production in the Túngara Frog. *Nature*. 444: 38.

- Haddad, C. F. B., and C. P. A. Prado. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *BioScience*. 55: 207–217.
- Haddad, C. F. B., and A. Giaretta. 1999. Visual and acoustic communication in the Brazilian torrent frog, *Hylodes asper* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica*. 55: 324–333.
- Hamidy, A. and M. Matsui. 2014. A new species of *Leptobrachium* from the Kelabit Highland, northwestern Borneo (Anura, Megophryidae). *Current Herpetology*. 33: 57–67.
- Harvey, M. B., and C. M. Sheehy. 2005. A new species of *Ischnocnema* (Anura: Leptodactylidae) from La Paz, Bolivia. *Herpetologica*. 61: 268–275.
- Hawkins, J. A. 2000. A survey of primary homology assessment: different workers perceive and define characters in different ways. p: 22–53. In: R. W. Scotland & R. T. Pennington (Eds), *Homology and systematics: coding characters for phylogenetic analysis*. Taylor and Francis, London.
- Hawkins, J. A., C. E. Hughes., and R. W. Scotland. 2000. Primary homology assessment, characters and character states. *Cladistics*. 13: 275–283.
- Heyer, W. R. 1969a. The adaptive ecology of the species groups of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Evolution*. 23: 421–428.
- Heyer, W. R. 1969b Studies on the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). III. A redefinition of the genus *Leptodactylus* and a description of a new genus of leptodactylid frogs. *Contributions in Science, Los Angeles County Museum of Natural History*. 155: 1–14.

- Heyer, W. R. 1970. Studies on frogs of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). VI. Biosystematics of the *melanonotus* group. Contributions in Science, Los Angeles County Museum of Natural History. 191: 1–48.
- Heyer, W. R. 1973. Systematics of the *marmoratus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Contributions in Science, Natural History Museum, Los Angeles County. 251: 1–50.
- Heyer, W. R. 1974. Relationships of the *marmoratus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. Contributions in Science, Natural History Museum, Los Angeles County. 253: 1–46.
- Heyer, W. R. 1975. A preliminary analysis of the intergeneric relationships of the frog family Leptodactylidae. Smithsonian Contributions to Zoology. 199: 1–55.
- Heyer, W. R. 1978. Systematics of the *fuscus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Natural History Museum of Los Angeles County Science Bulletin. 29: 1–85.
- Heyer, W. R. 1979. Systematics of the *pentadactylus* species group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). Smithsonian Contributions to Zoology. 301: 1–43.
- Heyer, W. R. 1980. The calls and taxonomic positions of *Hyla giesleri* and *Ololygon opalina* (Amphibia: Anura: Hylidae). Proceedings of the Biological Society of Washington. 93: 655–661.

- Heyer, W. R. 1998. The relationships of *Leptodactylus diedrus* (Anura, Leptodactylidae). *Alytes*. 16: 1–24.
- Heyer, W. R. 1999. A new genus and species of frog from Bahia, Brazil (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) with comments on the zoogeography of the Brazilian campos rupestres. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 112: 19–39.
- Heyer, W. R. 2005. Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia: Leptodactylidae) from Middle America, northern South America, and Amazonia. *Arquivos de Zoologia*. 37: 269–348.
- Heyer, W. R., and C. M. Carvalho. 2000. The enigmatic advertisement call of *Eleutherodactylus ramagii* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Amphibia–Reptilia*. 21: 117–121.
- Heyer, W. R., and A. A. Giaretta. 2009. Advertisement calls, notes on natural history, and distribution of *Leptodactylus chaquensis* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) in Brasil. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 122: 292–305.
- Heyer, W. R., and Y. R. Reid. 2003. 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*. 75: 39–54.
- Heyer, W. R., and R. O. de Sá. 2011. Variation, Systematics, and Relationships of the *Leptodactylus bolivianus* Complex (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*. 635: 1–58.

- Heyer, W. R., A. S. Rand, C. A. G. d. Cruz, O. L. Peixoto, and C. E. Nelson. 1990. Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia*. 31: 231–410.
- Heyer, W. R., R. O. de Sá, and A. Rettig. 2005. Sibling species, advertisement calls, and reproductive isolation in frogs of the *Leptodactylus pentadactylus* species cluster (Amphibia, Leptodactylidae). In N. Ananjeva & O. Tsinenko (editors), *Herpetologica Petropolitana. Proceedings of the 12th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica*, August 12–16, 2003, St. Petersburg, Russia. *Russian Journal of Herpetology*. 12 (supplement): 35–39.
- Hödl, W. 1990. Reproductive diversity in Amazonian lowland frogs. *Fortschritte der Zoologie*. 38: 41–60.
- Jansen, M., L. G. Álvarez, and G. Köhler. 2007. New species of *Hydrolaetare* (Anura, Leptodactylidae) from Bolivia with some notes on its natural history. *Journal of Herpetology*. 41: 724–732.
- Juncá, F. A., and L. Lugli. 2009. Reproductive biology, vocalizations, and tadpole morphology of *Rupirana cardosoi*, an anuran with uncertain affinities. *South American Journal of Herpetology*. 4: 173–178.
- Kabisch, K., H.–J. Herrmann, P. Klossek, H. Lupp, and K. Brauer. 1998. Foam gland and chemical analysis of the foam of *Polypedates leucomystax* (Gravenhorst 1829) (Anura: Rhacophoridae). *Russian Journal of Herpetology*. 5: 10–14.
- Kluge, A. G. 1989. A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology*. 38: 7–25.

- Kok, P. J. R., M. Kokubum, R. D. MacCulloch, and A. Lathrop. 2007. Morphological variation in *Leptodactylus lutzi* (Anura, Leptodactylidae) with description of its advertisement call and notes on its courtship behavior. *Phyllomedusa*. 6: 45–60.
- Kokubum, M., and A. A. Giaretta. 2005. Reproductive ecology and behaviour of a species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylinae) with endotrophic tadpoles: Systematic implications. *Journal of Natural History*. 39: 1745–1758.
- Kokubum, M., and M. B. Souza. 2008. Reproductive ecology of *Leptodactylus aff hylaedactylus* (Anura, Leptodactylidae) from an open area in northern Brazil. *South American Journal of Herpetology*. 3: 15–21.
- Kolenc, F., C. Borteiro, D. Baldo, D. P. Ferraro, and C. Prigioni. 2009. The tadpoles and advertisement calls of *Pleurodema bibroni* Tschudi and *Pleurodema kriegi* (Müller), with notes on their geographic distribution and conservation status (Amphibia, Anura, Leiuperidae). *Zootaxa*. 1969: 1–35.
- Kwet, A. 2006. Bioacoustics in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) from Santa Catarina, southern Brazil, p. 77–80. *In*: 13th Congress of the Societas Europaea Herpetologica. M. Vences, J. Köhler, T. Ziegler, and W. Böhme (eds.), Societas Europaea Herpetologica.
- Kwet, A. 2007. Bioacoustic variation in the genus *Adenomera* in southern Brazil, with revalidation of *Leptodactylus nanus* Müller, 1922 (Anura, Leptodactylidae). *Zoosystematics and Evolution*. 83: 56–68.

- Kwet, A., J. Steiner, and A. Zillikens. 2009. A new species of *Adenomera* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest in Santa Catarina, southern Brazil. *Studies in Neotropical Fauna and Environment*. 44: 93–107.
- Lamar, W.W., and W. E. Wild. 1995. Comments on the natural history of *Lithodytes lineatus* (Anura: Leptodactylidae) with a description of the tadpole. *Herpetological Natural History*. 3: 135–142.
- Li, J.-t., J. Che, R. W. Murphy, H. Zhao, E. -m Zhao, D. -q Rao, and Y. -p Zhang. 2009. New insights to the molecular phylogenetics and generic assessment in the Rhacophoridae (Amphibia: Anura) based on five nuclear and three mitochondrial genes, with comments on the evolution of reproduction. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 53: 509–522.
- Luna, M. C., C. Taboada, D. Baêta, and J. Faivovich. 2012. Structural diversity of nuptial pads in Phyllomedusinae (Amphibia: Anura: Hylidae). *Journal of Morphology*. 273: 712–724.
- Lynch, J. D. 1971. Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of leptodactyloid frogs. *University of Kansas Museum of Natural History Miscellaneous Publication*. 53: 1–238.
- Maddison, W. P. and D. R. Maddison. 2011. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. <http://mesquiteproject.org>.
- Magalhães, F. M., D. Loebmann, M. Kokubum, C. F. B. Haddad, and A. A. Garda 2014. A new species of *Pseudopaludicola* (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) from Northeastern Brazil. *Herpetologica*. 70: 77–88.

- Maniatis, T., E. F. Fritsch, and J. Sambrook. 1982. Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982. 545 p.
- Martin, A. A. 1967. Australian anuran life histories: some evolutionary and ecological aspects. *In*: Weatherley, A.H. (Ed.), Australian Inland Waters and their Fauna. Australian National University Press, Canberra, ACT, pp. 175–191.
- Martin, W. F. 1972. Evolution of vocalization in the genus *Bufo*. *In* Evolution in the genus *Bufo* (ed. W. F. Blair), pp. 279–309. Austin: University of Texas Press.
- ., and C. Gans. 1972. Muscular control of the vocal tract during release signaling in the toad *Bufo valliceps*. *Journal of Morphology*. 137: 1–28.
- Martins, M. 1988 Biologia reprodutiva de *Leptodactylus fuscus* em Boa Vista, Roraima (Amphibia: Anura). *Revista Brasileira de Biologia*. 48: 969–977.
- Marquéz, R., I. de la Riva, and J. Bosch. 1995. Advertisement calls of Bolivian Leptodactylidae (Amphibia, Anura). *Journal of Zoology*. 237: 313–336.
- McLister, D., E. D. Stevens, and J. P. Bogart. 1995. Comparative contractile dynamics of calling and locomotor muscles in three hylid frogs. *The Journal of Experimental Biology*. 198: 1527–38.
- Menin, M., A. P. Almeida, and M. Kokubum. 2009. Reproductive aspects of *Leptodactylus hylaedactylus* (Anura: Leptodactylidae), a member of the *Leptodactylus marmoratus* species group, with a description of tadpoles and calls. *Journal of Natural History*. 43: 35–36.

- Menin, M., and D. J. Rodrigues. 2013. The terrestrial tadpole of *Leptodactylus andreae* (Anura, Leptodactylidae), a member of the *Leptodactylus marmoratus* species group. *Zootaxa*. 3683: 092–094.
- Miranda, N. E. O., N. M. Maciel, K. P. Tepedino, and A. Sebben. No prelo. Internal larval characters in anuran systematic studies: a phylogenetic hypothesis for *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*.
- Muedeking M. H., and W. R. Heyer. 1976. Descriptions of eggs and reproductive patterns of *Leptodactylus pentadactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). *Herpetologica*. 32: 137–139.
- Mullis, K. 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*. 262: 56–65.
- Myers, C. W., and J. W. Daly. 1979. A name for the poison frog of Cordillera Azul, eastern Peru, with notes on its biology and skin toxins (Dendrobatidae). *American Museum Novitates*. 2674: 1–24.
- Nali, R. C., J. Faivovich, and C. P. A. Prado. 2014. The occurrence of unpigmented mature oocytes in *Hypsiboas* (Anura: Hylidae). *Salamandra*. 50: 53–56.
- Nixon, K. C. 2002. WinClada ver. 1.00.08 Published by the author, Ithaca, NY.
- Oliveira Filho, J. C., and A. A. Giaretta. 2008. Reproductive behavior of *Leptodactylus mystacinus* (Anura, Leptodactylidae) with notes on courtship call of other *Leptodactylus* species. *Iheringia, Série Zoologia*. 98: 508–515.

- Oliveira Filho, J. C., H. C. M. Costa and U. M. L. Braga. 2005. Egg-laying and foam-beating in *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae). *Biota Neotropica*. 5: bn01305022005.
- Orrico, V. G. D., R. Lingnau, and L. O. M. Giasson. 2009. The advertisement call of *Dendropsophus nahdereri* (Anura, Hylidae, Dendropsophini). *South American Journal of Herpetology*. 4: 295–299.
- Padial, J. M., J. C. Chaparro, and I. de la Riva. 2008. Systematics of *Oreobates* and the *Eleutherodactylus discoidalis* species group (Amphibia, Anura), based on two mitochondrial DNA genes and external morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 152: 737–773.
- Padial, J. M., and I. De la Riva. 2009. Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 155: 97–122.
- Parker, H. W. 1932. XXXVII.—The systematic status of some frogs in the Vienna Museum. *Annals and Magazine of Natural History*. 10. 341–344.
- Pearl, C. A., M. Cervantes, M. Chan, U. Ho, R. Shoji, and E. O. Thomas. 2000. Evidence for a mate-attracting chemosignal in the dwarf African clawed frog *Hymenochirus*. *Hormones and Behaviour*. 38: 67–74.
- Pereyra, M. O., D. E. Cardozo, J. Baldo, and D. Baldo. 2014. Description and phylogenetic position of a new species of *Oreobates* (Anura: Craugastoridae) from Northwestern Argentina. *Herpetologica*. 70: 211–227.

- Ponssa, M. L. 2001. Cuidado parental y comportamiento de cardumen de larvas en *Leptodactylus insularum* (Anura, Leptodactylidae). *Alytes*. 19: 183–195.
- Ponssa, M. L. 2008. Cladistic analysis and osteological descriptions of the frog species in the *Leptodactylus fuscus* species group (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 46: 249–266.
- Ponssa, M. L., and S. Barrionuevo. 2008. Foam-generating behaviour in tadpoles of *Leptodactylus latinasus* (Amphibia, Leptodactylidae): significance in systematics. *Zootaxa*. 1884: 51–59.
- Ponssa, M. L., and W. R. Heyer. 2007. Osteological characterization of four putative species of the genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae), with comments on intra- and interspecific variation. *Zootaxa*. 1403: 37–54.
- Ponssa, M. L., M.J. Jowers, and R. O. De Sá. 2010. Osteology, natural history notes, and phylogenetic relationships of the poorly known Caribbean frog *Leptodactylus nesiotus* (Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa*. 2646: 1–25.
- Pöth, D., K. C. Wollenberg, M. Vences, and S. Schulz. 2012. Volatile amphibians pheromones: macrolides from mantellid frogs from Madagascar. *Angewandte Chemie International Edition*. 51: 2187–2190.
- Prado, C.P.A. and A. D’Heursel. 2006. The tadpole of *Leptodactylus elenae* (Anura: Leptodactylidae), with the description of the internal buccal anatomy. *South American Journal of Herpetology*. 1: 79–86.

- Prado, C.P.A., M. Uetanabaro, and C. F. B. Haddad. 2002. Description of a new reproductive mode in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with a review of the reproductive specialization toward terrestriality in the genus. *Copeia*. 2002: 1128–1133.
- Prado, C.P.A., L. F. Toledo., J. Zina, and C. F. B. Haddad. 2005. Trophic eggs in the foam nests of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae): An experimental approach. *herpetological Journal*. 15: 279–284.
- Prado, G. M., M. Bilate and H. Wogel. 2007. Call diversity of *Leptodactylus natalensis* Lutz, 1930 (Anura; Leptodactylidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*. 47: 97–103.
- Preininger, D., M. Boeckle, M. Sztatecsny, and W. Hödl. 2013. Divergent receiver responses to components of multimodal signals in two foot-flagging frog species. *PLOS ONE*. 8: e55367.
- Pröhl, H., R. A. Koshy, U. Mueller, S. A. Rand, and M. J. Ryan. 2006. Geogaphic variation of genetic and behavioral traits in northern and southern Túngara frogs. *Evolution*. 60: 1669–1679.
- Pyron, R. A., and J. J. Wiens. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 61: 543–583.
- Rao, D.–Q., J. A. Wilkinson, and M.–W. Zhang. 2006. A new species of the genus *Vibrissaphora* (Anura: Megophryidae) from Yunnan Province, China. *Herpetologica*. 62: 90–95.

- Rendall, D., and A. Di Fiore. 2007. Homoplasy, homology, and the perceived special status of behavior in evolution. *Journal of Human Evolution*. 52: 504e521.
- Robillard, T., G. Höbel, and H. C. Gerhardt. 2006. Evolution of advertisement signals in North American hylid frogs: vocalizations as end-products of calling behavior. *Cladistics*. 22: 533–545.
- Rodrigues, D. J., M. Menin, and A. P. Lima. 2007. Redescription of the tadpole of *Leptodactylus rhodomystax* (Anura: Leptodactylidae) with natural history notes. *Zootaxa*. 1509: 61–67.
- Ron, S. 2007. Systematics and the evolution of calls and mating preferences on Túngara Frogs (Genus *Engystomops*). Dissertation presented to the Faculty of the Graduate School of The University of Texas at Austin. 247 pp.
- Ron, S., E. Toral, M. Rivera and A. Terán–Valdez. 2010. A new species of *Engystomops* (Anura: Leiuperidae) from southwestern Ecuador. *Zootaxa*. 2606: 25–49.
- Rowley, J. J. L., B. L. Stuart, N. Thy, and D. A. Emmett. 2010. A new species of *Leptolalax* (Anura: Megophryidae) from northeastern Cambodia. *Zootaxa*. 2567: 57–68.
- Ryan, M. J., and N. M. Kime. 2003. Selection on long distance acoustic signals. pp. 225–274. *In*: Simmons, A.; Fay, R.; Popper, A. editors, *Springer Handbook of Auditory Research; Acoustic Communication*. Springer Verlag, Berlin.
- Ryan, M. J., and A. S. Rand. 2001. Feature weighting in signal recognition and discrimination by Túngara Frogs, pp. 86–101. *In*: *Anuran communication*. M. J. Ryan (ed.). Smithsonian Institution Press, Washington DC.

- Ryan, M. J., R. B. Cocroft, and W. Wilczynski. 1990. The role of environmental selection in intraspecific divergence of mate recognition signals in the Cricket Frog, *Acris crepitans*. *Evolution*. 44: 1869–1872.
- Sabaj Pérez, M. H. (editor). 2010. Standard symbolic codes for institutional resource collections in herpetology and ichthyology: an online reference. Version 1.5 (4 Oct 2010). Electronically accessible at <http://www.asih.org/>, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Washington, D.C.
- Sanger, F., S. Nicklen, and A. R. Coulson. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *PNAS*. 74: 5463–5467.
- Sarbadhikary, M. and R. L. Marsh .1994. Performance of the trunk muscles in hylids during mating calls. *Physiologist*. 37: A54.
- Schmidt, R. S. 1973. Vocal cord mechanisms of release calling in Northern Leopard Frog. *Copeia*. 1973: 624–627.
- Schlüter, A., P., Petra Löttker, and K. Mebert. 2009. Use of an active nest of the leaf cutter ant *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) as a breeding site of *Lithodytes lineatus* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetology Notes*. 2: 101–105.
- Shoemaker, V. H., and L. L. McClanahan. 1973. Nitrogen excretion in the larvae of a land-nesting frog (*Leptodactylus bufonius*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 44: 1149–1156.

- Siegel, D. S., D. M. Sever, T. A. Schriever, and R. E. Chabarria. 2008. Ultrastructure and histochemistry of the adhesive breeding glands in male *Gastrophryne carolinensis* (Amphibia: Anura: Microhylidae). *Copeia*. 2008: 877–881.
- Souza, M. B., and C. F. B. Haddad. 2003. Redescription and reevaluation of the generic status of *Leptodactylus dantasi* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) and description of its unusual advertisement call. *Journal of Herpetology*. 37: 490–497.
- Steindachner, F. 1867. Reise der österreichischen Fregatte Novara um die Erde in den Jahren 1857, 1858, 1859 unter den Befehlen des Commodore B. von Wüllerstorff-Urbair. K. K. Hof-und Staatsdruckerei, Wien.
- Stuart, A. E., and D. C. Currie. 2002. Behaviour is not reliably inferred from end-product structure in Caddisflies. *Ethology*. 108: 837–856.
- Stuart, B. L., K. Sok, and T. Neang. 2006. A collection of amphibians and reptiles from hilly eastern Cambodia. *Raffles Bulletin of Zoology*. 54: 129–155.
- Sung, Y., J. Yang, and Y. Wang. 2014. A new species of *Leptolalax* (Anura: Megophryidae) from southern China. *Asian Herpetological Research*. 5: 80–90.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, and S. Kumar. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30: 2725–2729.
- Tárano, Z. 2010. Advertisement calls and calling habits of frogs from a flooded savanna of Venezuela. *South American Journal of Herpetology*. 5: 221–240.

- Taylor R. C, B. A. Klein, and M. J. Ryan. 2011. Inter-signal interaction and uncertain information in anuran multimodal signals. *Current Zoology*. 57: 153–161.
- Thibaudeau, G., and R. Altig. 1999. Endotrophic anurans. *In*: McDiarmid R. W, and R. Altig, editors. *Tadpoles. The biology of anuran larvae*. Chicago: University of Chicago Press. pp 170 –188.
- Trewavas, E. 1933. The hyoid and larynx of the Anura. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B*, 222: 401–527.
- Tyler, M. J., and M. Davies. 1979. Foam nest construction by Australian leptodactylid frogs (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Journal of Herpetology*. 13: 506–509.
- Vaira M. 1997. *Leptodactylus bolivianus* (NCN). *Behavior. Herpetological Review*. 28: 200.
- Vaz-Ferreira R., and A. Gehrau. 1975. Comportamiento epimelético de la rana común *Leptodactylus ocellatus* (L.) (Amphibia, Leptodactylidae). I. Atención de la cría y actividades alimentarias relacionadas. *Physis*. 34: 1–14.
- Vences, M., and D. Wake 2007. Speciation, species boundaries and phylogeography of amphibians. *In*: Heatwole H., M. Tyler, editors. *Amphibian biology*, vol. 7. *Amphibian systematics*. Chipping Norton, Australia: Surrey Beatty and Sons. pp. 2613–2671.
- Vences, M., G. Wahl-Boos, S. Hoegg, F. Glaw, E. Spinelli Oliveira, A. Meyer, and S. Perry. 2007. Molecular systematics of mantelline frogs from Madagascar and the evolution of their femoral glands. *Biological Journal of the Linnean Society*. 92: 529–539.

- Vera Candioti, M. F., C. Úbeda, and E. O. Lavilla. 2005. Morphology and metamorphosis of *Eupsophus calcaratus* tadpoles (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Morphology*. 264: 161–177.
- Vera Candioti, M. F., F. Brusquetti, and F. Netto. 2007. Morphological characterization of *Leptodactylus elenae* tadpoles (Anura: Leptodactylidae: *L. fuscus* group), from central Paraguay. *Zootaxa*. 1435: 1–17.
- Vera Candioti, M. F., J. J. Nuñez, and C. Úbeda. 2011. Development of the nidicolous tadpoles of *Eupsophus emiliopugini* (Anura: Cycloramphidae) until metamorphosis, with comments on systematic relationships of the species and its endotrophic developmental mode. *Acta Zoologica*. 92: 27–45.
- Wells K. D. 2007. The ecology and behavior of amphibians. University of Chicago Press, Chicago.
- Wenzel, J. W. 1992. Behavioral homology and phylogeny. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 23: 361–381.
- Wiens, J. J. 2001. Character analysis in morphological phylogenetics: problems and solutions. *Systematic Biology*. 50: 689–699.
- Willaert. B., F. Bossuyt, S. Janssenswillen, D. Adriaens, G. Baggerman, S. Matthijs, E. Pauwels, P. Proost, A. Raepsaet, L. Schoofs, G. Stegen, D. Treer, L. Van Hoorebeke, W. Vandebergh, and V. Bocxlaer. 2013. Frog nuptial pads secrete mating season–specific proteins related to salamanders pheromones. *Journal of Experimental Biology*. 216: 4139–4143.

- Wollenberg, K. C., F. Glaw, A. Meyer, and M. Vences. 2007. Molecular phylogeny of Malagasy reed frogs, *Heterixalus*, and the relative performance of bioacoustics and color-patterns for resolving their systematics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 45: 14–22.
- Yager D. D. 1992. A unique sound production mechanism in the pipid anuran *Xenopus borealis*. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 104: 351–375.
- Zaracho. V. H. 2014. Re-description of the advertisement Call of *Vitreorana uranoscopa* (Müller, 1924) (Anura, Centrolenidae) from the Argentinean Atlantic Forest, with notes on natural history. *South American Journal of Herpetology*. 9: 83–89.
- Zina, J., and C. F. B. Haddad. 2005. Reproductive activity and vocalizations of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil. *Biota Neotropica*. 5: 1–11.

APÊNCIDES

Apêndice 1

Species delimitation, patterns of diversification and historical
biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura,
Leptodactylidae)

Artigo publicado no Journal of Biogeography (2014). 41: 855-870.

ORIGINAL
ARTICLE

Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae)

Antoine Fouquet^{1,2*}, Carla Santana Cassini³, Célio Fernando Baptista Haddad³, Nicolas Pech⁴ and Miguel Trefaut Rodrigues²

¹CNRS Guyane USR3456, 97300 Cayenne, French Guiana, ²Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, CEP 05508-090 São Paulo, SP, Brazil, ³Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, CEP 13506-900 Rio Claro, SP, Brazil, ⁴Aix-Marseille Université, CNRS, IRD, UMR 7263 – IMBE, Evolution Génome Environnement, 13331 Marseille Cedex 3, France

ABSTRACT

Aim For many taxa, inaccuracy of species boundaries and distributions hampers inferences about diversity and evolution. This is particularly true in the Neotropics where prevalence of cryptic species has often been demonstrated. The frog genus *Adenomera* is suspected to harbour many more species than the 16 currently recognized. These small terrestrial species occur in Amazonia, Atlantic Forest (AF), and in the open formations of the Dry Diagonal (DD: Chaco, Cerrado and Caatinga). This widespread and taxonomically complex taxon provides a good opportunity to (1) test species boundaries, and (2) investigate historical connectivity between Amazonia and the AF and associated patterns of diversification.

Location Tropical South America east of the Andes.

Methods We used molecular data (four loci) to estimate phylogenetic relationships among 320 *Adenomera* samples. These results were integrated with other lines of evidence to propose a conservative species delineation. We subsequently used an extended dataset (seven loci) and investigated ancestral area distributions, dispersal–vicariance events, and the temporal pattern of diversification within *Adenomera*.

Results Our conservative delineation identified 31 Confirmed Candidate Species (four remaining unconfirmed) representing a 94% increase in species richness. The biogeographical analysis suggested an Amazonian origin of *Adenomera* with as many as three dispersals to the DD and one to the AF during the Miocene. These dispersals were associated with habitat shifts from forest towards open habitats.

Main conclusions The DD played a major role in the history of *Adenomera* in limiting dispersal and favouring diversification of open-habitat lineages. Moreover, a forest bridge during the Miocene Climatic Optimum may have permitted dispersal from Amazonia towards the AF and subsequent diversification. Uncovering species boundaries and distributions might drastically change inferences based on currently perceived distribution patterns.

Keywords

Amazonia, Anura, Atlantic forest, biodiversity, biogeography, cryptic species, diversification, Neotropics, species delineation, tropical forests.

*Correspondence: Antoine Fouquet, CNRS Guyane USR3456, Immeuble Le Relais, 2 Avenue Gustave Charlery, 97300, Cayenne, French Guiana.
E-mail: fouquet.antoine@gmail.com

INTRODUCTION

Estimation of how many species exist on Earth and where they occur remains approximate (Mora *et al.*, 2011), not only for microorganisms (Quince *et al.*, 2008) or arthropods (Hamil-

ton *et al.*, 2012), but also for some vertebrate groups such as tropical amphibians (e.g. in Amazonia: Jansen *et al.*, 2011; Fouquet *et al.*, 2007; Funk *et al.*, 2012). The consequences of such a prevalence of cryptic species can dramatically alter our perception of biodiversity structure (Bickford *et al.*, 2007).

Basic understanding of biodiversity patterns are, however, necessary to investigate ecosystem functioning and to underpin conservation efforts (Sites & Marshall, 2003, 2004; Bini *et al.*, 2006). It is also mandatory to investigate the processes responsible for the origin of Neotropical diversity, a topic that has intrigued naturalists for more than a century (Wallace, 1852; Bates, 1863). Intricate geomorphological and climatic events of the Tertiary have been proposed as important causes of South American megadiversity, notably the uplift of the Andes cordillera during the Miocene–Pliocene (reviewed by Hoorn *et al.*, 2010 for Amazonia). Another striking feature of the South American biota is the north-east–south-west belt of open formations (Prado & Gibbs, 1993), also called the ‘Dry Diagonal’ (DD), which includes the Chaco, the Cerrado and the Caatinga, and which acts as a barrier to biotic exchange between Amazonia and the Atlantic Forest (AF) (Costa, 2003; Batalha-Filho *et al.*, 2013). Among the few studies to investigate the impact of the DD, some have revealed ancient divergences between forest-dwelling organisms on each side, dating back to the Oligocene/Miocene (Pellegrino *et al.*, 2011; Fouquet *et al.*, 2012a,b). Notwithstanding, some subsequent connections between these two forest blocks have been hypothesized to explain dispersals across Amazonia and the AF (Costa, 2003; Melo Santos *et al.*, 2007). In some other groups, lineages underwent habitat shifts, adapting to open habitats and dispersing through the continent. Ecological adaptations linked to historical contraction/expansion of different habitats have probably fed and enriched each major biome’s species assemblages (Rheindt *et al.*, 2008; Valdujo *et al.*, 2013). Therefore, exploring historical biogeography and habitat shifts are probably key to understanding the processes that underlie the assembly and evolution of Neotropical biodiversity (Wiens & Donoghue, 2004).

The leptodactylid frog genus *Adenomera* includes 16 nominal species distributed almost throughout the lowlands of tropical South America east of the Andes. *Adenomera* species are generally omnipresent in their habitat, often representing the most abundant anurans of the leaf litter (Menin *et al.*, 2008). Nevertheless, they have remained relatively neglected and have puzzled frog systematists for decades (Heyer, 1973; Angulo *et al.*, 2003; Duellman, 2005). These dull-coloured, small-sized frogs typically display characteristics of a group rich in cryptic species, as indicated by bioacoustic data (Angulo *et al.*, 2003). Such a widespread and taxonomically complex taxon provides an excellent opportunity to investigate the role played by the DD in the diversification of South American groups. Fouquet *et al.* (2013) provided the first phylogeny to include a substantial number of species of *Adenomera*. This dated phylogeny estimated that diversification of *Adenomera* started in the Neogene (25 Ma, 95% confidence interval, CI: 29–21 Ma) and that AF and open-habitat species are nested within Amazonian lineages. This prompted us to question how many dispersal–vicariance events occurred between Amazonia, the DD and the AF, and when these events happened. We also investigated which geomor-

phological and climatic events of the Neogene could have driven these dispersals and promoted diversification within Amazonia, the DD and the AF.

Using one of the most geographically complete sampling efforts for any species-rich South American vertebrate genus studied so far (320 *Adenomera* individuals from 264 localities), we combined mitochondrial and nuclear data (3.3 kb) to produce a conservative species delineation within *Adenomera*. We subsequently used an extended dataset (6.6 kb for 34 terminals) to test whether dispersal–vicariance events occurred between Amazonia, the DD and the AF with associated habitat shifts from forest towards open habitats and associated patterns of diversification.

MATERIALS AND METHODS

Sampling and laboratory protocol

We gathered tissue samples for 320 *Adenomera* individuals from 264 localities, including all nominal species and encompassing the entire distribution of the genus. This material was preserved in absolute ethanol and was collected by the authors, colleagues or from loans of many institutions across the world (see Appendix S1a,e in Supporting Information). We followed the taxonomic nomenclature of Frost (2013).

Attribution of this material to currently recognized nominal species was often ambiguous. However, for 14 of the 16 nominal species (except *A. andreae* and *A. hylaedactyla*), we obtained tissues of topotypical specimens (or from nearby localities) that unambiguously matched the original descriptions (morphology and/or calls). Therefore, at least one sample could reliably be linked to each nominal species. Additionally, an array of other considerations (Appendix S2) was taken into account to cross-validate identifications.

Standard molecular protocols were used from DNA extraction to sequencing (Appendix S1b) following Fouquet *et al.* (2013). We targeted two mitochondrial loci [cytochrome *b* (cyt *b*), 667 bp; cytochrome *c* oxidase subunit I (*COI*), 657 bp] and two nuclear loci [recombination activating gene exon 1 (*RAG1*), 1422 bp; proopiomelanocortin C (*POMC*), 547 bp] and these were sequenced for all samples (primers detailed in Appendix S1a). Other selected species of Leptodactylidae and Centrolenidae were used as outgroups (Appendix S1c) following the relationships presented by Pyron & Wiens (2011) and Fouquet *et al.* (2013).

Bayesian analysis

The concatenated matrix comprised 3301 bp. We observed several codon insertion–deletions in *POMC* but none of them led to ambiguous alignment after checking the reading frame. We started by investigating phylogenetic relationships among samples. The best partition scheme was determined using PARTITIONFINDER 1.0 (Lanfear *et al.*, 2012) with the Bayesian information criterion and considering each codon

position of each locus as a possible partition. Bayesian analyses followed Fouquet *et al.* (2013) (Appendix S1d).

Species delineation

The candidate species were primarily delimited from a threshold based on the mitochondrial DNA (mtDNA) distance between nominal species pairs. Genetic distances [uncorrected pairwise (*p*)-distances] were computed for the combined mitochondrial genes using MEGA 5.1 (Tamura *et al.*, 2011). The mean genetic distance found between nominal species recovered as sister species was used as a preliminary threshold (8%, see Results), considering that greater distances may indicate the existence of different species. We therefore flagged all the lineages diverging from their closest relatives by distances greater than this threshold as candidate species.

In a second step, we determined whether closely related candidate species display signs of reproductive isolation by examining nuclear DNA (nDNA) allele sharing and network cohesion in relation to range overlap. To determine the most probable alleles for individuals heterozygous for nDNA sequences we used PHASE (Stephens *et al.*, 2001; Stephens & Donnelly, 2003) implemented in DNASP 5 (Librado & Rozas, 2009). We divided the data by nDNA loci and by main species groups according to the topology recovered from the phylogenetic analysis. We performed five independent runs of 100 iterations each (which were sufficient to reach stationarity) after a burn-in of 100, and a thinning interval of 1; we used the default cut-off thresholds. Using these alignments we computed statistical parsimony networks using TCS 1.21 (Clement *et al.*, 2000) with a 95% connection limit.

We also considered additional lines of evidence such as bioacoustics, morphology and/or ecology from new and published data to reach a conservative and integrative species delineation. These case-by-case examinations are fully explained in Appendix S2 and summarized in Table 1. When evidence supported the delineation, the species were flagged as Confirmed Candidate Species (CCS). When no evidence was found, one of the species of the pair was flagged as an Unconfirmed Candidate Species (UCS). This approach was essentially adapted from Vieites *et al.* (2009).

Molecular dating

We selected one representative of each candidate species based on our species delineation (with the exception of *A. sp. C* for which no additional sequences could be gathered) and for each produced additional sequences in order to confidently estimate interspecific relationships and timing of divergences using BEAST 1.6.2 (Drummond & Rambaut, 2007). We used two approaches: (1) the concatenated dataset method (CM), and (2) the multilocus species tree method (MM) (*BEAST; Heled & Drummond, 2010). In addition to the abovementioned molecular data, we targeted the H-strand transcription unit 1 (H1, c. 2400 bp including 12S and 16S) and two additional nuclear loci: tyrosinase (*TYR*,

531 bp) and rhodopsin (*RHOD*, 316 bp) (Appendix S1). For the 12S–16S fragment, we performed alignment using MAFFT 6 (Katoh *et al.*, 2002) under default parameters except for the use of the E-INS-i strategy, which is adapted to sequences with one conserved domain and long gaps. Along with previously analysed sequences, we obtained a final 6599 bp alignment.

This dataset was partitioned by codons for coding mtDNA and nDNA and one for 12S–16S, and we used the software jMODELTEST 0.1.1 (Guindon & Gascuel, 2003; Posada, 2008) to select the substitution model that best fitted each of these partitions under the Akaike information criterion (Akaike, 1974). For the CM, we used the linked tree prior for all trees, and the MM was based on the five loci with unlinked tree prior for all trees (mtDNA, *RAG1*, *POMC*, *TYR* and *RHOD*). All partitions were considered under the estimated uncorrelated lognormal rates. The tree prior used the birth and death process, with a UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages) generated starting tree and the auto-optimize option for operators.

Both analyses were calibrated on the crown age of *Adenomera* (prior set as a normal distribution 25 Ma; SD = 3) and a maximum age of 80 Ma for Leptodactylidae according to results of Fouquet *et al.* (2013) based on a similar matrix but larger taxon sampling and more calibrations. We computed 2.0×10^8 generations, sampled every 1000 generations. We examined convergence on stationarity using TRACER 1.5 (Rambaut & Drummond, 2007). For both analyses effective sample sizes (ESS) were > 200 for all parameters except for a few substitution rates. Therefore, we computed an additional 2.0×10^8 generations run with the prior distribution of these rates changed from a gamma to a uniform distribution bounded between 10^{-5} and 1. This led to ESS > 300 for all parameters. The maximum clade credibility trees were computed with TREEANNOTATOR 1.6.2 from 10% of trees resampled.

Biogeographical reconstruction

We performed the Bayesian method of biogeographical and ancestral state reconstruction implemented in RASP 2.0 (Sanmartín *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2011). We used the obtained species tree, and species distribution areas were assigned to geographical regions as follows: A – Amazonia, B – DD (Cerrado, Chaco and Caatinga), and C – AF. The presence of *A. hylaedactyla* in the northern tip of the AF and in Amazonia resulted from recent dispersals (see Results). As this species is represented by one terminal only in the species tree, these secondary dispersals could not be inferred from the analysis. We therefore attributed *A. hylaedactyla* to region B. The Bayesian binary analysis was run with the fixed state frequencies model (Jukes–Cantor). Among-site variation was set to equal, and no outgroup was defined (root distribution was set to NULL). We ran the analysis for 5.0×10^6 generations, sampled every 1000, with 10 chains and two parallel runs from which a combined result was obtained. The first 1000 samples were discarded.

Table 1 Criterion used for candidate species delineation of *Adenomera*. Species pairs (in one case, a triplet) are in grey shaded cells. Species are eventually coded as Confirmed or Unconfirmed Candidate Species (CCS/UCS).

Clade	mtDNA divergence/relative	Max <i>p</i> -distance within species	nDNA monophyly	No nDNA allele sharing and network cohesion	Sympatry with relative/ contact zone	Other lines of evidences vs. closest relative	Sampling (<i>n</i>)	Diagnose	Remark
<i>A. andreae</i>	> 10%	> 8%	Yes PP = 1	Yes	Yes	Vocalization Forest type III (Angulo et al., 2003)	Good (72)	CCS	Complex – over-conservative
<i>A. sp. C</i>	8.8%	< 8%	Yes PP = 0.97	Yes	Probable	Vocalization Forest type II (Angulo et al., 2003)	Low (3)	CCS	
<i>A. sp. T</i>	8.8%	< 8%	Yes sister to <i>A. sp. C</i>	Yes	Probable	No data	Low (1)	UCS	May be conspecific with <i>C</i>
<i>A. sp. E</i>	> 10%	< 8%	No <i>A. sp. D</i> nested	Yes	Probable	Vocalization Forest type I (Angulo et al., 2003)	Good (14)	CCS	
<i>A. sp. D</i>	> 10%	< 8%	No nested in <i>A. sp. E</i>	Yes	Probable	No data	Low (1)	UCS	May be conspecific with <i>E</i>
<i>A. simonstuarti</i>	> 10%	< 8%	No 2 clades	Yes	Yes	Vocalization (Angulo & Icochea, 2010)	Good (14)	CCS	Complex – over-conservative
<i>A. diptyx</i>	> 10%	< 8%	No 3 clades	Allele sharing and no cohesion	Yes	Exotrophic larvae (de la Riva, 1995)	Good (13)	CCS	Hybrid + complex
<i>A. hylaedactyla</i>	> 10%	< 8%	<i>A. diptyx</i> nested	Allele sharing and no cohesion	Yes	Endotrophic larvae (Menin et al., 2009)	Good (77)	CCS	Hybrid + complex
<i>A. martinezi</i>	> 10%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	No	Vocalization and morphology (de Carvalho & Giarretta, 2013)	Good (2)	CCS	
<i>A. saci</i>	> 10%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	Probable	Vocalization and morphology (de Carvalho & Giarretta, 2013)	Good (10)	CCS	
<i>A. sp. B</i>	> 10%	< 8%	Yes sister to <i>A. sp. A</i>	Yes	Probable	No data	Low (1)	UCS	May be conspecific with <i>A. saci</i>
<i>A. lutzi</i>	> 10%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	No	Vocalization and morphology (Kok et al., 2007; Heyer, 1973)	Good (3)	CCS	
<i>A. sp. P</i>	> 10%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	No	No bioacoustic data but habitat and morphology	Low (2)	CCS	
<i>A. heyeri</i>	> 10%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	No	Vocalization and morphology (Boistel et al., 2006)	Good (8)	CCS	
<i>A. sp. F</i>	> 10%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	No	Vocalization and morphology	Good (9)	CCS	Complex – over-conservative
<i>A. sp. G</i>	> 10%	> 8%	Yes PP = 1	Yes	No	Morphology	Good (6)	CCS	Complex – over-conservative
<i>A. sp. H</i>	> 10%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	No	Vocalization	Low (5)	CCS	

Table 1 Continued

Clade	mtDNA divergence/relative	Max <i>p</i> -distance within species	nDNA monophyly	No nDNA allele sharing and network cohesion	Sympatry with relative/ contact zone	Other lines of evidences vs. closest relative	Sampling (<i>n</i>)	Diagnose	Remark
<i>A. sp. Q</i>	> 10%	< 8%	Yes sister to <i>A. heyeri</i>	Yes	No	No bioacoustic data but habitat and morphology	Low (1)	CCS	
<i>A. sp. I</i>	> 10%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	Yes	No data	Good (17)	CCS	Complex – over-conservative
<i>A. sp. J</i>	8.30%	< 8%	Yes PP = 0.99	Yes	Yes	Vocalization and morphology	Good (9)	CCS	
<i>A. marmorata</i>	8.30%	< 8%	<i>A. sp. J</i> nested	Yes	Yes	Vocalization and morphology	Good (13)	CCS	Complex – over-conservative
<i>A. sp. S</i>	9.5%	< 8%	Yes PP = 1	Allele sharing but cohesion	Probable	Vocalization	Good (6)	CCS	
<i>A. ajurauna</i>	9.5%	< 8%	S nested	Allele sharing but cohesion	Probable	Vocalization (Berneck <i>et al.</i> , 2008)	Good (5)	CCS	Complex – over-conservative
<i>A. sp. K</i>	> 10%	< 8%	2 lineages	Yes with RAG1 not with POMC	Yes	No data	Low (2)	CCS	
<i>A. sp. A</i>	> 10%	< 8%	Yes	Yes	Probable	No data	Low(1)	CCS	
<i>A. sp. O</i>	9.3%	< 8%	Yes	Yes	Probable	No data	Low (1)	CCS	
<i>A. sp. N</i>	9.3%	< 8%	Yes	Yes	Probable	No data	Low (1)	CCS	
<i>A. bokermanni</i>	9.0%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	Yes	Morphology (Heyer, 1973; Kwet, 2007)	Good(2)	CCS	
<i>A. engelsi</i>	7.6%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	Yes	Vocalization and morphology (Kwet <i>et al.</i> , 2009)	Good (4)	CCS	
<i>A. nana</i>	7.6%	< 8%	2 lineages	Yes	Yes	Vocalization and morphology (Kwet, 2007)	Low (3)	CCS	
<i>A. sp. R</i>	9.7%	< 8%	<i>A. araucaria</i> nested	No allele sharing but no cohesion	Probable	Vocalization (Kwet, 2006, 2007)	Low (2)	CCS	
<i>A. araucaria</i>	9.7%	< 8%	<i>A. sp. R</i> nested	No allele sharing but no cohesion	Probable	Vocalization (Kwet, 2006, 2007)	Low (3)	CCS	
<i>A. thomei</i>	9.4%	< 8%	Yes PP = 1	Yes	Probable	Vocalization, morphology and mode of reproduction (Almeida & Angulo, 2006)	Good (10)	CCS	
<i>A. sp. M</i>	9.2%	< 8%	<i>A. sp. L</i> nested	No allele sharing but no cohesion	Probable	Vocalization	Low (2)	CCS	May be conspecific with L
<i>A. sp. L</i>	9.2%	< 8%	<i>A. sp. M</i> nested	No allele sharing but no cohesion	Probable	Vocalization	Low (2)	UCS	
<i>A. coca</i>	0	0	Nested in <i>A. hylaedactyla</i>	No	Yes	Vocalization (Angulo & Reichle, 2008)	Low (2)	UCS	May be conspecific with <i>A. hylaedactyla</i>

p-distance, pairwise distance; PP, posterior probability.

Diversification

To test whether changes in diversification rate occurred among clades, we used the model-based approach proposed by Rabosky *et al.* (2007). Using the MM tree (species tree), we first estimated the constant-rate model using the `fitNDR_1rate.Rd` function of the `LASER` package (Rabosky, 2006) under R 2.14.1 (R Development Core Team, 2011) and tested for shifts in diversification rate within the phylogeny by comparing likelihood of the chronogram under constant and rate-flexible diversification models (Rabosky *et al.*, 2007). The best-fitting model was determined using a likelihood ratio test (LRT) between the constant-rate and the flexible-rate models (nested), and by Δ AIC scores between the flexible-rate and rate-decrease models (not nested). All analyses were performed under two extremes of the relative extinction rate ($a = 0$ and $a = 0.99$) as a fixed parameter to determine the robustness of the results to variation in the extinction fraction (Raup, 1985). We also used the relative cladogenesis test implemented in the `GEIGER` package (Harmon *et al.*, 2008) to identify lineages characterized by unusually slow or rapid diversification rates.

RESULTS

Phylogenetic analysis

The phylogenetic tree obtained from Bayesian analysis of the 320 *Adenomera* terminals strongly supported *Adenomera* as monophyletic and as the sister group of *Lithodytes* (Fig. 1). The diversity within *Adenomera* was much higher than previously recognized, with highly divergent lineages that cannot be attributed to any nominal species (see below). On the contrary, *A. coca* was nested within *A. hylaedactyla* with a very short branch length.

Eight major clades can be delimited (Fig. 1), each predominantly associated with one of the major South American biomes (Fig. 2). Only the *A. hylaedactyla* clade is widespread, occurring across Amazonia, the DD and even the northern tip of the AF. Up to five species co-occur at any single locality (Fig. 2). However, in most of Amazonia and the DD, typically three species co-occur at a single locality. Interestingly, this pattern contrasts with the AF situation, where species display a striking pattern of allopatraptry with very few cases of co-occurrence.

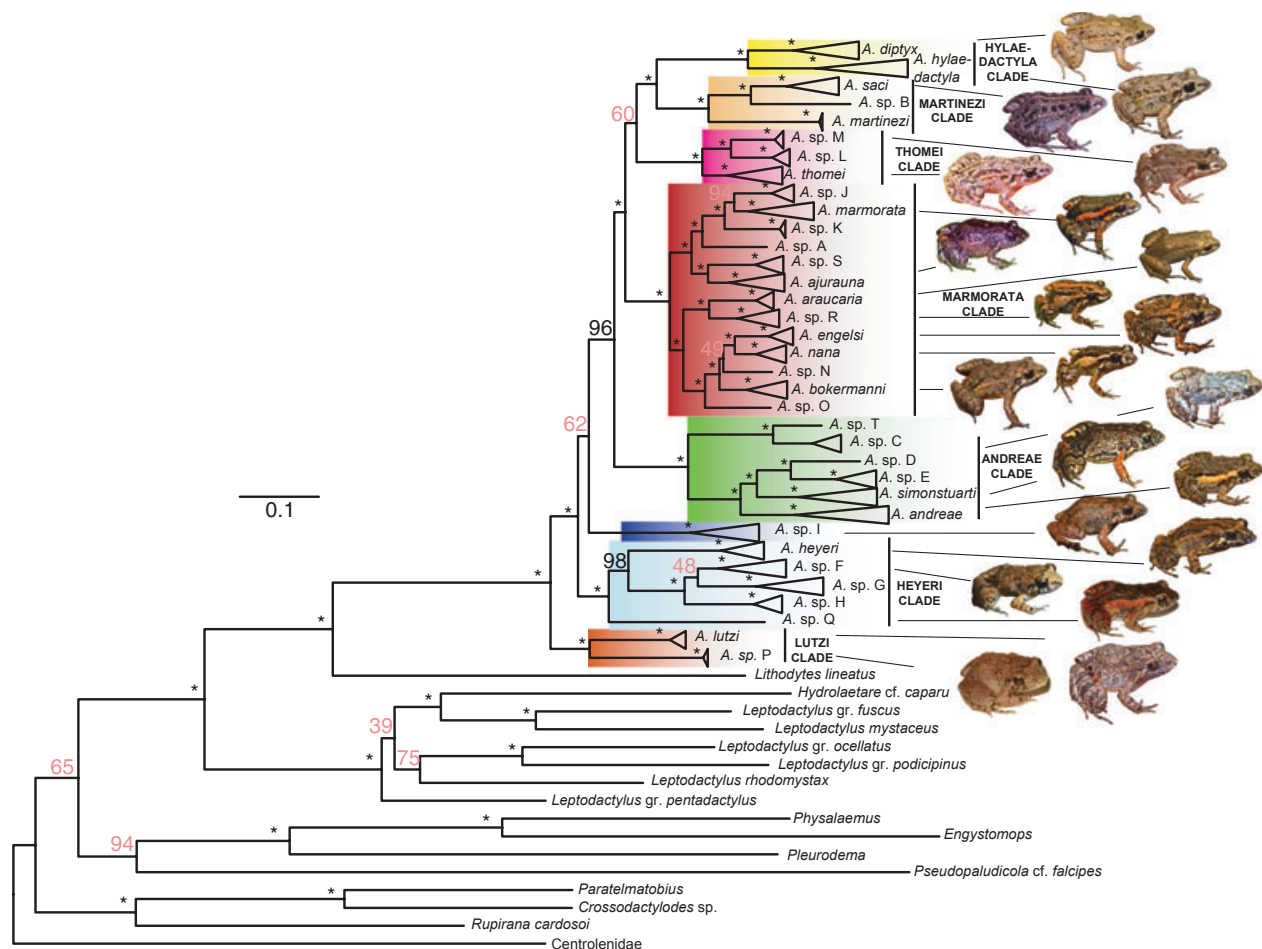


Figure 1 Phylogenetic reconstruction hypothesized from Bayesian analysis of 320 *Adenomera* rooted on Centrolenidae, using 3301 bp of concatenated mtDNA (cyt *b* + *COI*) and nDNA (*RAG1* + *POMC*). Posterior probabilities (PP $\times$ 100) are given near the nodes and branch scale is indicated in number of substitutions per site. Asterisks indicate PP > 0.95. For clarity, we collapsed branches within delimited species and indicate major clades with a colour code.

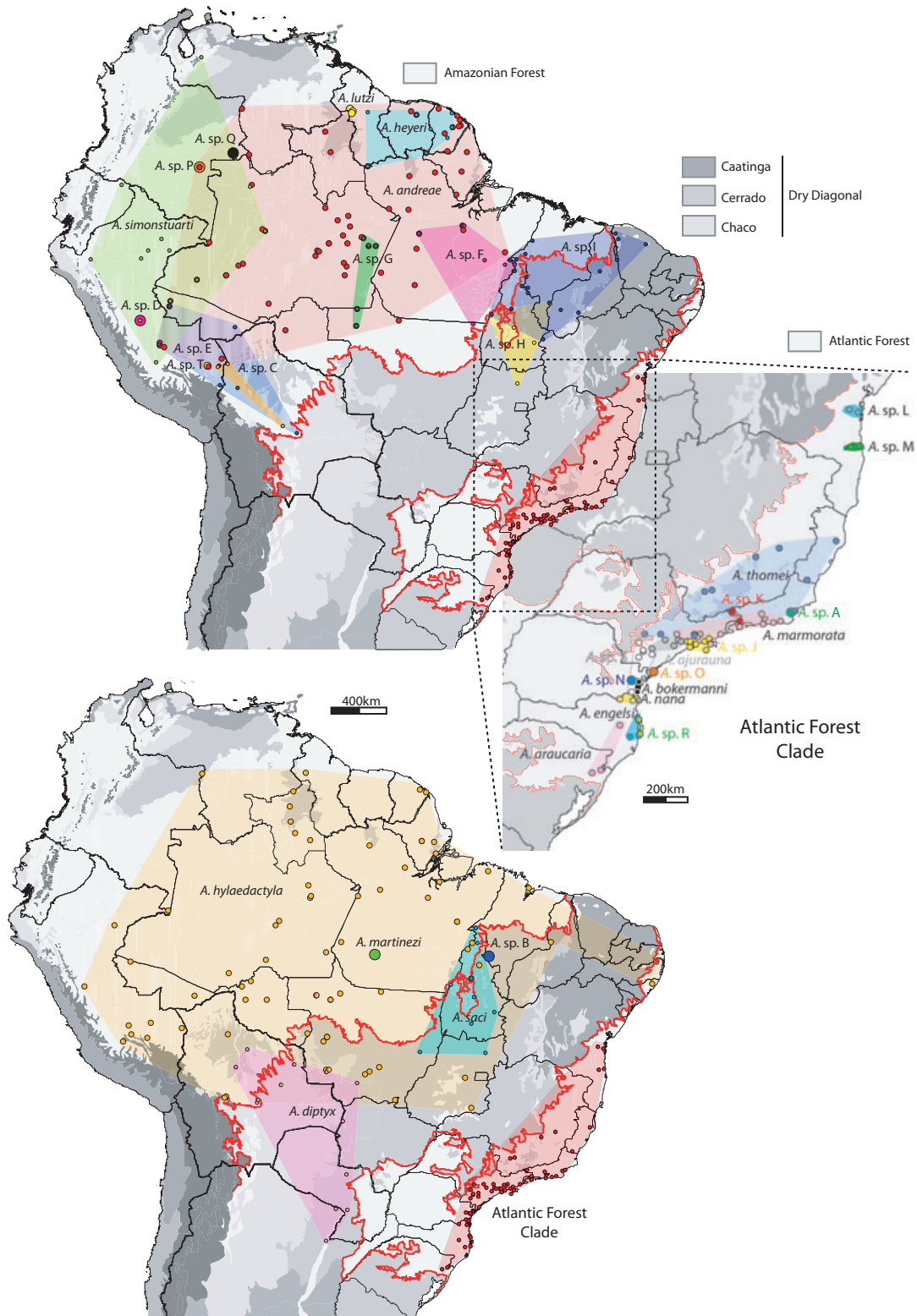


Figure 2 Distribution of the delimited species of *Adenomera* in relation to major South American biomes. Boundaries of the Dry Diagonal are highlighted in red.

Species delineation

One pair of sister nominal species was recovered (*A. engelsi* + *A. nana*) with mean *p*-distances of 7.6% (range: 7.1–

8.3%). Therefore, we used a threshold of 8% that delimited 35 major mitochondrial lineages flagged as candidate species named from *A. sp. A* to *A. sp. T*. For reasons explained in Appendix S2, we departed in two cases (*A. andreae* and

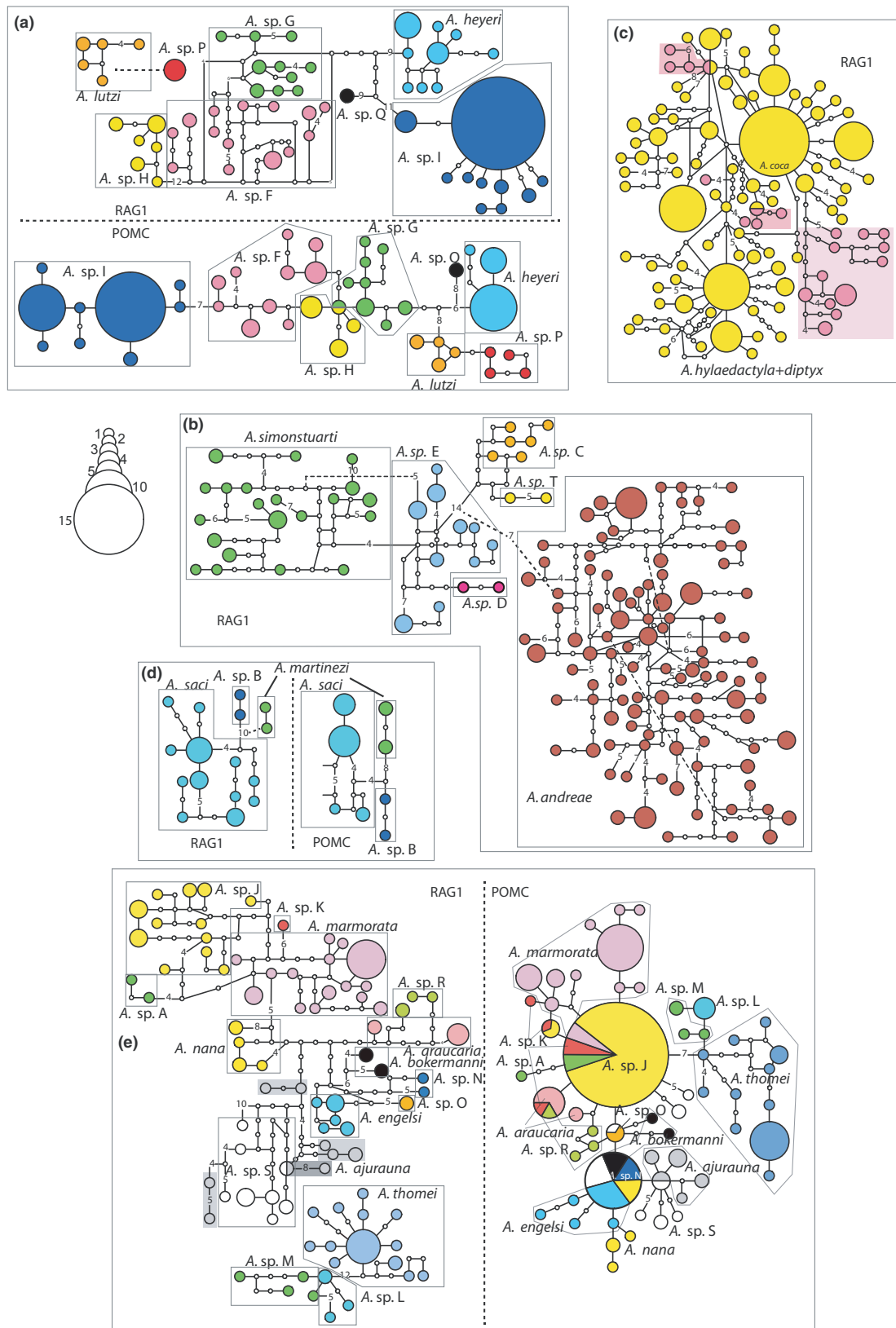


Figure 3 Statistical parsimony networks of phased nuclear loci (*RAG1* and *POMC*) for (a) the *Adenomera heyeri*, *A. lutzi* and *A. sp. I* clades; (b) the *A. andreae* clade, (c) the *A. hylaedactyla* clade, (d) the *A. martinezi* clade and (e) the AF clades. Haplotypes are shown as circles proportional in size to haplotype frequency. In two cases (*A. andreae* and *A. hylaedactyla* clades), the networks from the *POMC* locus were omitted because they were so anastomosed that a clear graphic was extremely difficult and would not provide any information.

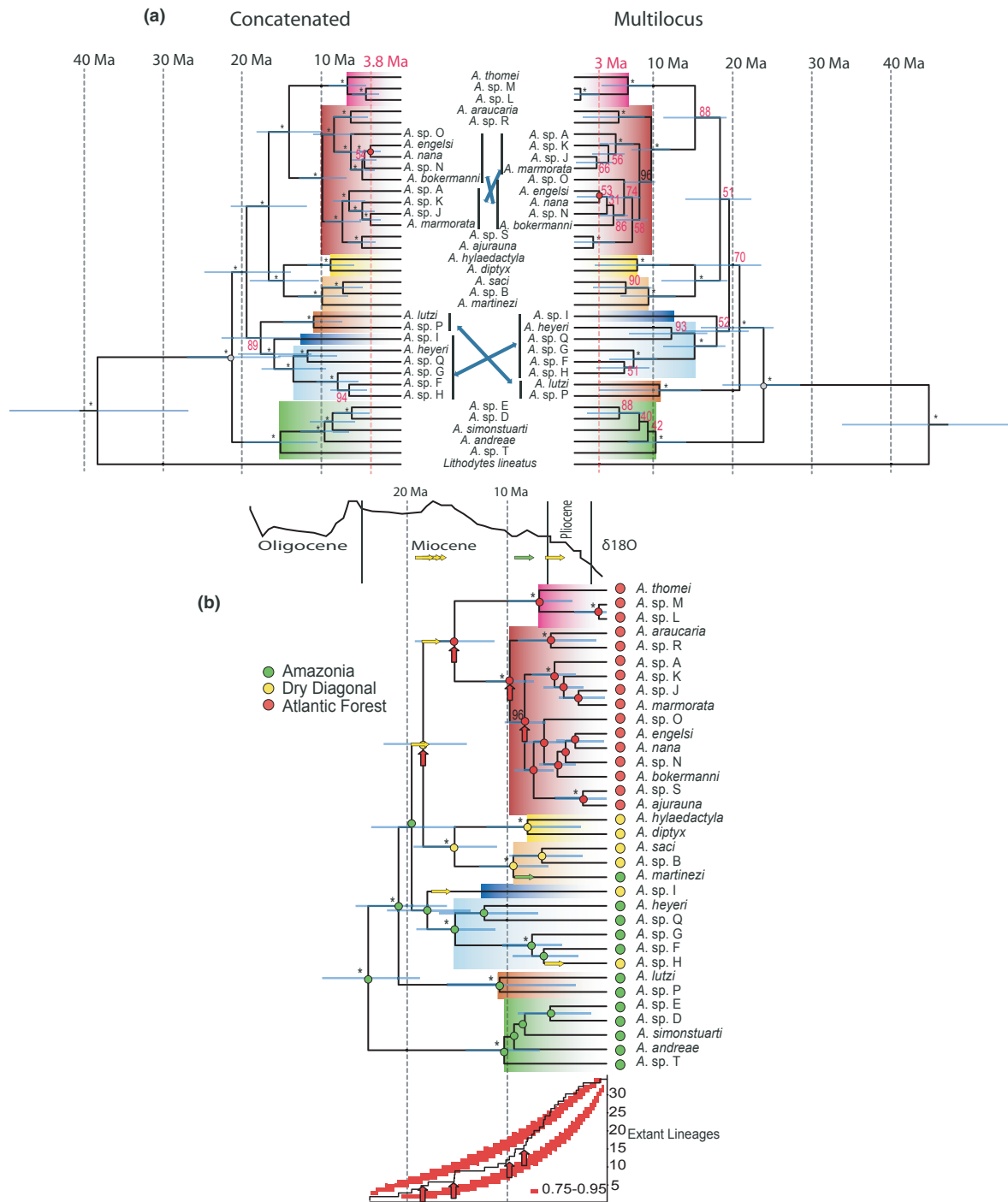


Figure 4 (a) Bayesian time-calibrated, maximum clade-credibility tree of *Adenomera* from 6599 bp using a concatenated partitioned dataset and a multilocus species tree (*BEAST). One internal calibration point is indicated by a yellow circle and the node of the pair of nominal species is indicated with a red circle. Posterior probabilities ($\times 100$) are indicated near the nodes and are in red when < 0.95 . 95% credibility intervals are indicated with blue bars. (b) Biogeographical analysis using the multilocus species tree showing only the most likely states at each node. Dispersal–vicariance events across biomes are indicated with arrows. The $\delta^{18}\text{O}$ variation across the Neogene, adapted from Zachos *et al.* (2001), is indicated on the top. A lineages-through-time (LTT) plot is illustrated at the bottom, with the 0.75–0.95 confidence interval indicated in red. Detected shifts in diversification trends are indicated with red arrows for increases in both tree and LTT plot.

A. sp. G which included divergences $> 8\%$) in the strict application of this threshold.

Phased nDNA sequence networks provide information about potential reproductive isolation among species

(Fig. 3). Cohesion of *RAG1* networks without any allele sharing was overall encountered with only a few exceptions: between *A. sp. S* and *A. ajurauna*; *A. sp. M* and *A. sp. L*; and *A. hylaedactyla* and *A. diptyx*. For the first two pairs, geographical proximity among the individuals displaying allele sharing may indicate past or current hybridization. For *A. hylaedactyla* and *A. diptyx*, the pattern is complex (Fig. 3c) as the haplotypes attributed to *A. diptyx* clustered in five different positions embedded within *A. hylaedactyla*.

Examining bioacoustic, reproductive and morphological data as well as geographical distributions, most candidate species were supported and were therefore considered as CCS (details in Appendix S2 and summarized in Table 1). The distinction between *A. hylaedactyla* and *A. diptyx* is maintained given published evidence of distinct reproductive modes (de la Riva, 1995) but is, however, blurred by evidence of introgression between them and the probable existence of several species within each of these two candidate species. The existence of additional specific subdivisions is probable in six other candidate species (Appendix S2, Table 1), therefore highlighting the over-conservativeness of our species delineation.

Eventually, only four species pairs remained of ambiguous status. We recognized the four species with less data within each pair as UCS; 31 as CCS; and *A. coca* as UCS.

Molecular dating

The resulting trees from CM (concatenated) and MM (multi-loci) were similar in topology and time estimates, even though the support values and the ages were generally lower for MM (Fig. 4). From MM, most of the defined species groups originated around 10 Ma, with the notable exceptions of *A. heyeri* (15 Ma, 95% CI: 11–19 Ma) and *A. thomei* clades (7 Ma, 95% CI: 3–11 Ma). The minimum time of divergence between the CCS pair is estimated between 3.8 Ma (95% CI: 2.5–5.2 Ma) (CM) and 3 Ma (95% CI: 0.3–5 Ma) (MM). Some discordances between CM and MM are noteworthy: (1) the estimates of the crown age of the *A. andreae* clade are markedly different (15 Ma, 95% CI: 11–20 Ma with CM vs. 10 Ma, 95% CI: 7–14 Ma with MM); (2) the position of the southern AF clade (*A. araucaria* + *A. sp. R*) is strongly sustained as the sister group to a south-central AF clade with CM but as the sister group to the rest of the *marmorata* clade with MM; and (3) one split is substantially younger in MM, i.e. between *A. sp. L* and *M* (0.8 Ma, 95% CI: 0–3.2 Ma) than with CM (4.4 Ma, 95% CI: 2.8–6.2 Ma).

Biogeography

The ancestral area reconstruction unambiguously supports an Amazonian origin of *Adenomera*, with three independent dispersal–vicariance events from Amazonia to the DD, one secondarily back to Amazonia, and one from Amazonia (or the DD) to the AF. These dispersals are estimated to have occurred recurrently between 20 and 7 Ma (Fig. 4). The cases of *A. sp. I*

Table 2 Summary tables of the diversification analyses of the genus *Adenomera*. (a) Comparison of three models of diversification: a constant rate model (all lineages with equal diversification rate); a flexible-rate model (at least one lineage has significantly higher or lower diversification rate); and a rate decrease model (at least one lineage exhibits a clade-specific decrease from the ancestral diversification rate). (b) Congruence of models of diversification for the flexible rate model using the lowest extinction fraction and the relative cladogenesis (rc) test.

Model	Constant rate	Flexible rate	Rate decrease		
(a)					
$a = 0.99 \ln L$	− 137.52 (0)	− 135.65	− 139.56 (7.83)		
(ΔAIC)		(0.26)			
Parameters	$r = 0.003$	$r = 0.002$; rcl = 0.00	$r = 0.002$; rcl = 0.002		
$a = 0 \ln L(\Delta AIC)$	− 131.802	− 128.44 (0)	− 133.703		
	(2.72)		(10.52)		
Parameters	$r = 0.162$	$r = 0.126$; rcl = 0.245	$r = 0.126$; rcl = 0.120		
Node	LogL	$r.1$	$r.2$	$P(\text{LRT test})$	$P(\text{rc test})$
(b)					
<i>A. marmorata</i>	−128.70	0.133	0.261	0.013	0.022
clade					
nested clade	−128.677	0.137	0.281	0.012	0.015

rcl, net diversification rate of the subtree partition (rate clade specific); P, probability; AIC, Akaike's information criterion; logL, log likelihood; LRT, likelihood ratio test.

and *A. sp. H* are particularly interesting given that each one is a single species that has colonized the Cerrado from Amazonia at very different periods of time (18 vs. 7 Ma).

Two other events led to the emergence of a clade of open habitat dwellers (*A. hylaedactyla* and *A. martinezi* clades) and the AF clades (*A. thomei* and *A. marmorata* clades). Intriguingly, the emergence of the two major AF clades is estimated about 15 Ma (95% CI: 11–19 Ma from MM), but the bulk of its diversity appeared only in the last 10 Myr within the *A. marmorata* clade. The divergence between *A. martinezi*, which occurs in an isolated fragment of open vegetation within Amazonia, and its sister clade in the Cerrado, formed by *A. saci* and *A. sp. B*, is estimated to have occurred approximately 10 Ma (9.4 Ma, 95% CI: 6–13 Ma).

Diversification

The constant-rate model is rejected in favour of the variable rate model when considering no extinction ($*P < 0.05$ with $a = 0$), and is near rejection when considering a high extinction rate ($P = 0.06$ with $a = 0.99$). Additionally, the chronogram favoured the variable-rate model with diversification rate change in one or more lineage (Table 2) over an alternative of retained elevated ancestral diversification rate. Increases in diversification rates are detected in the AF and the *A. marmorata* clades. Using the relative cladogenesis test, increases of diversification were detected for the *A. marmorata* clade ($*P < 0.05$).

DISCUSSION

Filling the species boundaries and species distributions gaps

Even a conservative estimate demonstrates how far from accurate our perception of species boundaries can be, mirroring or exceeding previous DNA-based attempts to evaluate actual species richness in tropical amphibians (Fouquet *et al.*, 2007; Vieites *et al.*, 2009; Jansen *et al.*, 2011; Funk *et al.*, 2012). Costello *et al.* (2012) predicted that approximately 30% more species remain to be described in terrestrial and marine ecosystems. Our estimation for *Adenomera* is far above that proportion (94% of additional species) and remains over-conservative in many cases. How many widespread Neotropical anurans also harbour such a number of undescribed species including sometimes localized endemics? Uncovering this diversity and its distribution might drastically change inferences made from currently perceived distribution patterns such as the estimation of species turnover (Condit *et al.*, 2002), the evaluation of exposure to climate change (Foden *et al.*, 2013) and conservation priorities in general (Jenkins *et al.*, in press). We acknowledge the necessity of describing the species uncovered here, given that naming species is necessary for species conservation (Angulo & Icochea, 2010). However, the level of diversity within *Adenomera* uncovered in this study clearly demonstrates that such an enterprise is beyond the scope of the current study. Nevertheless, this study leaves the door wide open for integrative taxonomic revisions of *Adenomera* (Dayrat, 2005; Padial *et al.*, 2010).

Our results profoundly alter our perception of the spatial distribution of *Adenomera* diversity. All 35 candidate species (except *A. hylaedactyla*) are circumscribed to one of the South American bioclimatic domains (Fig. 2). This demonstrates the existence, despite remarkable habitat shifts (see below), of a general strong habitat conservatism in the group. In terms of local diversity, we detected in southwestern Amazonia and between Amazonia and the Cerrado a maximum of five species, but only two to three species generally co-occur. Overall, such alpha diversity is strikingly low compared to other frog genera such as *Leptodactylus*, *Hypsi-boas* or *Dendropsophus*, which can reach more than 10 congeneric species in a single location. This may be due to the low dispersal ability, terrestrial habitat, and the mode of reproduction of *Adenomera*, which prevent trophic specialization for both adults and larvae and mirror the conserved morphology in the group.

Historical biogeography

Adenomera displays a striking pattern of historical diversification tied to major biotic modifications of the South American landscape during the Miocene, which can be divided into three categories: (1) from Amazonia towards the DD; (2) between Amazonia and the AF; and (3) within each major biome (Amazonia, DD and AF).

1. 'Out of Amazonia' dispersals towards the DD and associated habitat shifts have occurred during the middle and late Miocene. Despite such a long history, the DD seems to have been colonized only on its western half. This part of the Cerrado has been documented to harbour a strong Amazonian influence (Valdujo *et al.*, 2012). Moreover, *Adenomera* is also absent from the much drier Caatingas, except in a few relictual humid forests in coastal highlands. Such geographical restriction highlights the strong environmental heterogeneity of the DD, which represents a barrier even for species endemic to these biomes (Silva *et al.*, 2006; Diniz-Filho *et al.*, 2008; Valdujo *et al.*, 2012, 2013) and a remarkable historical component that seems to be influenced by the low dispersal ability, habitat conservatism (Valdujo *et al.*, 2013) and high ecophysiological constraints of anurans (Hillman *et al.*, 2009). Interestingly, two of these dispersals correspond to single speciation events (*A. sp. H* and *A. sp. I*), but one led to a diversified species group (*A. hylaedactyla* + *A. martinezi* clades). In fact, the habitats of the two former species correspond to the small patches of dry and gallery forests peppered through the Cerrado while the species of the *A. hylaedactyla* and *A. martinezi* clades are well adapted to grassland. Such an observation indicates that diversification trends subsequent to habitat shifts are probably linked with key eco-physiological adaptations.

The Middle Miocene Climatic Optimum (MMCO) (17–15 Ma) was a warm and wet period preceded and followed by periods of stronger seasonality associated with dry adapted ectotherm range expansions and extinction events (Böhme, 2003). Such environmental changes have probably been accompanied by forest expansion and contraction that may have isolated forest-adapted species within the DD, therefore favouring adaptation to new environmental conditions. Conversely, the open habitat adapted species of the *A. martinezi* clade were probably subsequently fragmented approximately 10 Ma, leading to the isolation of *A. martinezi* within Amazonia. This may be a compelling testimony of expansion/opening of Amazonia and of ancient stability of patches of open vegetation within this biome. Several open habitat species of other taxa are endemic to Serra do Cachimbo (plants: Zappi *et al.*, 2011; Squamata: Rodrigues, 1987; Anura: Faivovich *et al.*, 2005).

2. The emergence of the AF clade was concomitant with that of the DD clade. The divergence time between the AF clade and its closest relative could correspond to an ancient continuity between Amazonia and the AF during the warm and wet MMCO or dispersal through a supposedly already existing DD. Very little evidence is available to dissect these hypotheses, but Batalha-Filho *et al.* (2013) hypothesized a southern pathway between these biomes during the middle Miocene (Por, 1992; Costa, 2003). Widespread vegetation opening is documented subsequent to the MMCO (Flower & Kennett, 1994) with drastic climatic changes linked to major uplift of the Andes (Hoorn *et al.*, 2010) and sea-current modifications (Herold *et al.*, 2009; Le Roux, 2011). Moreover, this time window matches the periods of major diversification found in other groups isolated in Amazonia and AF such as

Adelophryne (Fouquet *et al.*, 2012a) and *Leposoma* (Pellegrino *et al.*, 2011), as well as birds (Batalha-Filho *et al.*, 2013). Ancestral state reconstruction suggests the AF clade dispersed from an open habitat ancestor, implying a reversion in ecological traits from open habitat back to forested habitat. Such a hypothesis implies a reversion in ecological traits from open habitat back to forested habitat. Given the general habitat conservatism in the group, the fact that only the 'Amazonian' part of the Cerrado is currently inhabited by *Adenomera* and that *A. hylaedactyla* colonized the AF domain via a northern route only recently (see below), we find this hypothesis less likely than a direct dispersal from Amazonia.

Interestingly, no other dispersal events between Amazonia and the AF occurred in *Adenomera*, which also mirrors the situation found in *Adelophryne* (Fouquet *et al.*, 2012a), *Allobates* (Santos *et al.*, 2009), *Dendrophryniscus/Amazophrynella* (Fouquet *et al.*, 2012b) and *Leposoma* (Pellegrino *et al.*, 2011) and strengthens the idea that only a little connectivity has subsequently occurred between these biomes, again highlighting the strong heterogeneity of the Cerrado (Werneck *et al.*, 2012; Valdujo *et al.*, 2013). Nevertheless, an exception is exemplified by *Adenomera hylaedactyla*, an extraordinarily widespread lineage. We hypothesized that this species only recently colonized the AF via a northern route. Such a route during Plio-Pleistocene is supported by biogeographical analysis of different groups, as well as by climatic and floristic evidence (Costa, 2003; Wang *et al.*, 2004; Melo Santos *et al.*, 2007; Cabanne *et al.*, 2008; Batalha-Filho *et al.*, 2013).

3. Most *Adenomera* diversification occurred subsequently to these dispersals within each biome, mostly during the last 10 Myr. In Amazonia, this coincides with a peak of diversity of plants, according to the pollen record, as well as with early diversification of some mammals, frogs and birds (Horn *et al.*, 2010). The biogeographical patterns and diversification trends are strikingly different across Amazonian *Adenomera* species groups (*A. andreae*, *A. heyeri*, *A. lutzi*). The diversification of the *A. andreae* clade seems to have taken place originally in western Amazonia some 10 Ma but with a subsequent burst of diversification, particularly within the widely distributed *A. andreae*. This is consistent with the establishment of the Acre system (11–7 Ma) and the subsequent origination of the Amazon drainage (Santos *et al.*, 2009; Hoorn *et al.*, 2010), isolating populations along the Andes, and both the Guiana and the Brazilian shields. Fouquet *et al.* (2012c) demonstrated that rivers constitute major barriers for *A. andreae* dispersal and this is likely to be the case for most *Adenomera* species. In the *A. heyeri* clade, two subclades occur on each sides of the Amazon River, corroborating that diversification is also likely to be linked to the origination of this drainage.

Within open biomes, diversification of *Adenomera* seems to have been reduced compared with that of the forest-dwelling groups, representing only 20% of the 35 delimited species and despite three independent origins, including two clades, being c. 18 Myr old and the large size of the area they occupy. Nevertheless, diversification *in situ* did occur

between the Cerrado and the Chaco and within the northern part of the Cerrado. These speciation events occurred during the late Miocene, concomitantly with the dispersal of *A. sp.* H c. 7 Ma, a period with drier climate and spreading grasslands (Cerling *et al.*, 1997; MacFadden, 1997).

The diversification within the AF accounts for almost half of the species of the genus. This diversification is particularly striking given its more recent origin and given that it took place in a much smaller area than for the Amazonian or the DD groups. This may be related to sharper elevational and latitudinal gradients of the AF (Cadena *et al.*, 2011) than the two other regions, a hypothesis already formulated to explain the higher morphological diversity in *Dendrophryniscus* versus *Amazophrynella* (Fouquet *et al.*, 2012b). Nevertheless, our species delineation remained over-conservative, particularly in Amazonia, and incomplete sampling is supported by the final decrease seen on the lineages-through-time (LTT) plot (Fig. 4). Within the AF clade, we recovered four main discontinuities/contact zones all found in other AF vertebrates (de Mello Martins, 2011; Marques Silva *et al.*, 2012). The oldest one separates the *A. thomei* clade from the *A. marmorata* clade c. 15 Ma. The contact zone between these two clades is extensive but delimits the coastal mountains from the plateau and a division in northern Rio de Janeiro. Interestingly, this break matches the distribution of semi-deciduous forest (Carnaval *et al.*, 2009) and is also found concomitant in *Adelophryne* (Fouquet *et al.*, 2012a) and in *Gymnodactylus* (Pellegrino *et al.*, 2005). Other major breaks are found in Santa Catharina and in the south of São Paulo states between c. 10 and 8 Ma. Similar and concomitant genetic breaks were also found, for instance, in pitvipers (Grazziotin *et al.*, 2006) and toads (Thomé *et al.*, 2010; Amaro *et al.*, 2012). The causes of these genetic breaks are largely debated with non-mutually exclusive hypotheses that may explain these patterns (de Mello Martins, 2011). The overall congruence with the proposed AF Pleistocene refugia (see Carnaval & Moritz, 2008) is, however, striking and indicates that these genetic breaks could have resulted from past climatic oscillations.

CONCLUSIONS

This study provides evidence of a large species richness underestimation in the genus *Adenomera* with at least 94% more species than currently recognized and a better resolution in the estimation of the diversity and its geographical distribution in the group. The discovery of this pattern indicates that the DD played a major role in the history of the genus in limiting dispersal and favouring diversification of open-habitat adapted lineages. Moreover, a forest bridge between Amazonia and the Atlantic Forest during the Miocene Climatic Optimum is likely to have led to dispersal from Amazonia towards the AF, a feature strikingly mirrored by other taxa. This work also highlights that in taxonomically poorly defined groups, such as *Adenomera*, defining species boundaries and distributions is a necessary step

before diversification processes can be investigated. Crucial data are still lacking for a comprehensive taxonomic revision of such a diverse group as *Adenomera*, but the present work will undoubtedly facilitate such an enterprise.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to the many people and institutions that made this study possible and the anonymous referees for their comments on the manuscript. We thank all the people who have helped us collect material and tissue and allowed specimen loans, pictures and call records as well as any type of complementary information (see Appendix S1a). We are also grateful to Manuel Antunes Jr, Sabrina Baroni, Renata Amaro, Felipe Martins, Adriana de Oliveira, Fabio Raposo, Cristina Miyaki and Maira Concistré (Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo) who helped with laboratory access and experiments. Mark Wilkinson, David Gower, Elodie Courtois, Paula Valdujo, Jerome Muriene and J.P. Lawrence helped in polishing the final manuscript. This work has benefited from an 'Investissement d'Avenir' grant managed by Agence Nationale de la Recherche (CEBA, ref.ANR-10-LABX-25-01). Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico and Tecnológico (CNPq) granted collection permits. Funding was provided by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, A. Fouquet PD scholarship 2007/57067-9; and C.S. Cassini PhD scholarship 2010/51606-8). C.F.B. Haddad and M.T. Rodrigues were supported by FAPESP and CNPq.

REFERENCES

- Akaike, H. (1974) A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, **19**, 716–723.
- Almeida, A.D.P. & Angulo, A. (2006) A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the state of Espírito Santo, Brazil, with remarks on the systematics of associated populations. *Zootaxa*, **1334**, 1–25.
- Amaro, R.C., Carnaval, A.C., Yonenaga-Yassuda, Y. & Rodrigues, M.T. (2012) Demographic processes in the montane Atlantic rainforest: molecular and cytogenetic evidence from the endemic frog *Proceratophrys boiei*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **62**, 880–888.
- Angulo, A. & Icochea, J. (2010) Cryptic species complexes, widespread species and conservation: lessons from Amazonian frogs of the *Leptodactylus marmoratus* group (Anura: Leptodactylidae). *Systematics and Biodiversity*, **8**, 357–370.
- Angulo, A., Cocroft, R.B. & Reichle, S. (2003) Species identity in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Peru. *Herpetologica*, **59**, 490–504.
- Angulo, A. & Reichle, S. (2008) Acoustic signals, species diagnosis and species concepts: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **152**, 59–77.
- Batalha-Filho, H., Fjeldså, J., Fabre, P.-H. & Miyaki, C.Y. (2013) Connections between the Atlantic and the Amazonian forest avifaunas represent distinct historical events. *Journal of Ornithology*, **154**, 41–50.
- Bates, H.W. (1863) *The naturalist on the River Amazons, a record of adventures, habits of animals, sketches of Brazilian and Indian life and aspects of nature under the Equator during eleven years of travel*. John Murray, London.
- Berneck, B.V.M., Costa, C.O.R. & Garcia, P.C.A. (2008) A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of São Paulo State, Brazil. *Zootaxa*, **1795**, 46–56.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K.L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K. & Das, I. (2007) Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, **22**, 148–155.
- Bini, L.M., Diniz, J.A.F., Rangel, T., Bastos, R.P. & Pinto, M.P. (2006) Challenging Wallacean and Linnean shortfalls: knowledge gradients and conservation planning in a biodiversity hotspot. *Diversity and Distributions*, **12**, 475–482.
- Böhme, M. (2003) The Miocene Climatic Optimum: evidence from ectothermic vertebrates of Central Europe. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **195**, 389–401.
- Boistel, R., de Massary, J.-C. & Angulo, A. (2006) Description of a new species of the genus *Adenomera* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from French Guiana. *Acta Herpetologica*, **1**, 1–14.
- Cabanne, G.S., d'Horta, F.M., Sari, E.H., Santos, F.R. & Miyaki, C.Y. (2008) Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): biogeography and systematics implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 760–773.
- Cadena, C.D., Kozak, K.H., Gómez, J.P., Parra, J.L., McCain, C., Bowie, R.B., Carnaval, A.C., Moritz, C., Rahbek, C., Roberts, T.E., Sanders, N., Schneider, C.J., VanDerWal, J., Zamudio, K. & Graham, C.H. (2011) Latitude, elevational climatic zonation, and speciation in New World vertebrates. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **279**, 194–201.
- Carnaval, A.C. & Moritz, C. (2008) Historical climate modeling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, **35**, 1187–1201.
- Carnaval, A.C., Hickerson, M.J., Haddad, C.F.B., Rodrigues, M.T. & Moritz, C. (2009) Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, **323**, 785–789.
- de Carvalho, T.R. & Giaretta, A.A. (2013) Taxonomic circumscription of *Adenomera martinezi* (Bokermann, 1956) (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) with the recognition of a new cryptic taxon through a bioacoustic approach. *Zootaxa*, **3701**, 207–237.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., MacFadden, B.J., Leakey, M.G., Quade, J., Eisenmann, V. & Ehleringer, J.R. (1997) Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature*, **389**, 153–158.

- Clement, M., Posada, D. & Crandall, K.A. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**, 1657–1660.
- Condit, R., Pitman, N., Leigh, E.G., Chave, J., Terborgh, J., Foster, R.B., Núñez, P., Aguilar, S., Valencia, R. & Villa, G. (2002) Beta-diversity in tropical forest trees. *Science*, **295**, 666–669.
- Costa, L.P. (2003) The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography*, **30**, 71–86.
- Costello, M.J., Wilson, S. & Houlding, B. (2012) Predicting total global species richness using rates of species description and estimates of taxonomic effort. *Systematic Biology*, **61**, 871–883.
- Dayrat, B. (2005) Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, **85**, 407–415.
- Diniz-Filho, J.A.F., Bini, L.M., Vieira, C.M., Blamires, D., Terribile, L., Bastos, R., de Oliveira, G. & Barreto, B. (2008) Spatial patterns of terrestrial vertebrate species richness in the Brazilian Cerrado. *Zoological Studies*, **47**, 146–157.
- Drummond, A.J. & Rambaut, A. (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, **7**, 214.
- Duellman, W.E. (2005) *Cusco Amazónico: the lives of amphibians and reptiles in an Amazonian rainforest*. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Faivovich, J., Haddad, C.F.B., Garcia, P.C.A., Frost, D.R., Campbell, J.A. & Wheeler, W.C. (2005) Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **294**, 6–228.
- Flower, B.P. & Kennett, J.P. (1994) The middle Miocene climatic transition: East Antarctic ice sheet development, deep ocean circulation and global carbon cycling. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **108**, 537–555.
- Foden, W.B., Butchart, S.H.M., Stuart, S.N., Vié, J.-C., Akçakaya, H.R., Angulo, A., DeVantier, L.M., Gutsche, A., Turak, E. & Cao, L. (2013) Identifying the world's most climate change vulnerable species: a systematic trait-based assessment of all birds, amphibians and corals. *PLoS ONE*, **8**, e65427.
- Fouquet, A., Gilles, A., Vences, M., Marty, C., Blanc, M. & Gemmell, N.J. (2007) Underestimation of species richness in Neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. *PLoS ONE*, **2**, e1109.
- Fouquet, A., Loebmann, D., Castroviejo-Fisher, S., Padial, J.M., Dill Orrico, V.G., Lyra, M., Joventino, I., Kok, P., Haddad, C.F.B. & Rodrigues, M.T. (2012a) From Amazonia to the Atlantic Forest: molecular phylogeny of Physelaphryninae frogs reveals unexpected diversity and a striking biogeographic pattern that stress out conservation status. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **65**, 547–556.
- Fouquet, A., Recoder, R., Teixeira, M., Cassimiro, J., Amaro, R.C., Camacho, A., Damasceno, R., Carnaval, A.C., Moritz, C. & Rodrigues, M.T. (2012b) Molecular phylogeny and morphometric analyses reveal deep divergence between Amazonia and Atlantic Forest species of *Dendrophryniscus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **62**, 826–838.
- Fouquet, A., Ledoux, J.-B., Dubut, V., Noonan, B.P. & Scotti, I. (2012c) The interplay of dispersal limitation, rivers and historical events shapes the genetic structure of an Amazonian frog. *Biological Journal of the Linnean Society*, **106**, 356–373.
- Fouquet, A., Blotto, B.L., Maronna, M.M., Verdade, V.K., Juncá, F.A., de Sá, R. & Rodrigues, M.T. (2013) Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **67**, 445–457.
- Frost, D.R. (2013) *Amphibian species of the world: an online reference*. Version 5.6. American Museum of Natural History, New York. Available at: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>.
- Funk, W.C., Caminer, M. & Ron, S.R. (2012) High levels of cryptic species diversity uncovered in Amazonian frogs. *Proceedings of the Royal Society of B: Biological Sciences*, **279**, 1806–1814.
- Grazziotin, F.G., Monzel, M., Echeverrigaray, S. & Bonatto, S.L. (2006) Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology*, **15**, 3969–3982.
- Guindon, S. & Gascuel, O. (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, **52**, 696–704.
- Hamilton, A.J., Novotny, V., Waters, E.K., Basset, Y., Benke, K.K., Grimbacher, P.S., Miller, S.E., Samuelson, G.A., Weiblen, G.D., Yen, J.D.L. & Stork, N.E. (2012) Estimating global arthropod species richness: refining probabilistic models using probability bounds analysis. *Oecologia*, **171**, 357–365.
- Harmon, L.J., Weir, J., Brock, C., Glor, R.E. & Challenger, W. (2008) GEIGER: investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics*, **24**, 129–131.
- Heled, J. & Drummond, A.J. (2010) Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Molecular Biology and Evolution*, **27**, 570–580.
- Herold, N., You, Y., Muller, R.D. & Seton, M. (2009) Climate model sensitivity to changes in Miocene paleotopography. *Australian Journal of Earth Sciences*, **57**, 377–379.
- Heyer, W.R. (1973) Systematics of the *marmoratus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Contributions in Science, Natural History Museum, Los Angeles County*, **251**, 1–50.
- Heyer, W.R. (1975) *Adenomera lutzi* (Amphibia: Leptodactylidae), a new species of frog from Guyana. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, **88**, 315–318.
- Hillman, S.S., Withers, P.C., Drewes, R.C. & Hillyard, S.D. (2009) *Ecological and environmental physiology of amphibians*. Oxford University Press, New York.
- Hoorn, C., Wesselingh, F.P., ter Steege, H., Bermudez, M.A., Mora, A., Sevink, J., Sanmartín, I., Sanchez-Meseguer, A.,

- Anderson, C.L., Figueiredo, J.P., Jaramillo, C., Riff, D., Negri, F.R., Hooghiemstra, H., Lundberg, J., Stadler, T., Särkinen, T. & Antonelli, A. (2010) Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, **330**, 927–931.
- Jansen, M., Bloch, R., Schulze, A. & Pfenninger, M. (2011) Integrative inventory of Bolivia's lowland amphibians reveals hidden diversity. *Zoologica Scripta*, **40**, 567–583.
- Jenkins, C.N., Pimm, S.L. & Joppa, L.N. (in press) Global patterns of terrestrial vertebrate diversity and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. & Miyata, T. (2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, **30**, 3059–3066.
- Kok, P.J.R., Kokubum, M.N.C., MacCulloch, R.D. & Lathrop, A. (2007) Morphological variation in *Leptodactylus lutzi* (Heyer, 1975) (Anura: Leptodactylidae) with description of its advertisement call and notes on its courtship behavior. *Phyllomedusa*, **6**, 45–60.
- Kwet, A. (2006) Bioacoustics in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) from Santa Catarina, southern Brazil. *Herpetologia Bonnensis II. Proceedings of the 13th Congress of the Societas Europaea Herpetologica September–2 October 2005* (ed. by M. Vences, J. Köhler, T. Ziegler and W. Böhme), pp. 77–80. Bonn, Germany.
- Kwet, A. (2007) Bioacoustic variation in the genus *Adenomera* in southern Brazil, with revalidation of *Leptodactylus nanus* Muller, 1922 (Anura: Leptodactylidae). *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin, Zool. Reihe*, **83**, 56–68.
- Kwet, A., Steiner, J. & Zillikens, A. (2009) A new species of *Adenomera* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest in Santa Catarina, southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, **44**, 93–107.
- Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S.Y.W. & Guindon, S. (2012) PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, **29**, 1695–1701.
- Le Roux, J.P. (2011) A review of Tertiary climate changes in southern South America and the Antarctic Peninsula. Part 1: Oceanic conditions. *Sedimentary Geology*, **247–248**, 1–20.
- Librado, P. & Rozas, J. (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**, 1451–1452.
- MacFadden, B.J. (1997) Origin and evolution of grazing guild in New World terrestrial mammals. *Trends in Ecology and Evolution*, **12**, 182–187.
- Marques Silva, S., Moraes-Barros, N., Ribas, C.C., Ferrand, N. & Morgante, J.S. (2012) Divide to conquer: a complex pattern of biodiversity depicted by vertebrate components in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **107**, 39–55.
- de Mello Martins, F. (2011) Historical biogeography of the Brazilian Atlantic forest and the Carnaval–Moritz model of Pleistocene refugia: what do phylogeographical studies tell us? *Biological Journal of the Linnean Society*, **104**, 499–509.
- Melo Santos, A.M.M., Cavalcanti, D.R., da Silva, J.M.C. & Tabarelli, M. (2007) Biogeographical relationships among tropical forests in north-eastern Brazil. *Journal of Biogeography*, **34**, 437–446.
- Menin, M., Waldez, F. & Lima, A.P. (2008) Temporal variation in the abundance and number of species of frogs in 10,000 ha of a forest in central Amazonia, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, **3**, 68–81.
- Menin, M., de Almeida, A.P. & Kokubum, M.N.C. (2009) Reproductive aspects of *Leptodactylus hylaedactylus* (Anura: Leptodactylidae), a member of the *Leptodactylus marmoratus* species group, with a description of tadpoles and calls. *Journal of Natural History*, **43**, 2257–2270.
- Mora, C., Tittensor, D.P., Adl, S., Simpson, A.G.B. & Worm, B. (2011) How many species are there on earth and in the ocean? *PLoS Biology*, **9**, e1001127.
- Padial, J.M., Miralles, A., de la Riva, I. & Vences, M. (2010) The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, **7**, 16.
- Pellegrino, K.C.M., Rodrigues, M.T., Waite, A.N., Morando, M., Yassuda, Y.Y. & Sites, J.W., Jr (2005) Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, **85**, 13–26.
- Pellegrino, K.C.M., Rodrigues, M.T., James Harris, D., Yassuda, Y.Y. & Sites, J.W., Jr (2011) Molecular phylogeny, biogeography and insights into the origin of parthenogenesis in the Neotropical genus *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae): ancient links between the Atlantic Forest and Amazonia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **61**, 446–459.
- Por, F.D. (1992) *Sooretama: the Atlantic rain forest of Brazil*. SPB Academic Publishing, The Hague.
- Posada, D. (2008) jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, **25**, 1253–1256.
- Prado, D.E. & Gibbs, P.E. (1993) Patterns of species distributions in the dry seasonal forest South America. *Annals of the Missouri Botanic Garden*, **80**, 902–927.
- Pyron, R.A. & Wiens, J.J. (2011) A large-scale phylogeny of Amphibia with over 2,800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **61**, 543–583.
- Quince, C., Curtis, T.P. & Sloan, W.T. (2008) The rational exploration of microbial diversity. *The ISME Journal*, **2**, 997–1006.
- R Development Core Team (2011) *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <http://www.R-project.org>.
- Rabosky, D.L. (2006) LASER: a maximum likelihood toolkit for detecting temporal shifts in diversification rates from molecular phylogenies. *Evol Bioinfo Online*, **2**, 257–260.
- Rabosky, D.L., Donnellan, S.C., Talaba, A.L. & Lovette, I.J. (2007) Exceptional among-lineage variation in diversification rates during the radiation of Australia's most diverse

- vertebrate clade. *Proceedings of the Royal Society of B: Biological Sciences*, **274**, 2915–2923.
- Rambaut, A. & Drummond, A.J. (2007) *Tracer*. Version 1.5. Available at: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>.
- Raup, D.M. (1985) Mathematical models of cladogenesis. *Paleobiology*, **11**, 42–52.
- Rheindt, F.E., Christidis, L. & Norman, J.A. (2008) Habitat shifts in the evolutionary history of a Neotropical flycatcher lineage from forest and open landscapes. *BMC Evolutionary Biology*, **8**, 193.
- de la Riva, I. (1995) A new reproductive mode for the genus *Adenomera* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae): taxonomic implications for certain Bolivian and Paraguayan populations. *Studies on Neotropical Fauna and the Environment*, **30**, 15–29.
- Rodrigues, M.T. (1987) Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao sul do rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia*, **31**, 105–230.
- Sanmartín, I., Mark, P.V.D. & Ronquist, F. (2008) Inferring dispersal: a Bayesian approach to phylogeny-based island biogeography, with special reference to the Canary Islands. *Journal of Biogeography*, **35**, 428–449.
- Santos, J.C., Coloma, L.A., Summers, K., Caldwell, J.P., Ree, R. & Cannatella, D.C. (2009) Amazonian amphibian diversity is primarily derived from late Miocene Andean lineages. *PLoS Biology*, **7**, 448–461.
- Silva, J.F., Fariñas, M.R., Felfili, J.M. & Klink, C.A. (2006) Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil. *Journal of Biogeography*, **33**, 536–548.
- Sites, J.W., Jr & Marshall, J.C. (2003) Delimiting species: a renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**, 462–470.
- Sites, J.W., Jr & Marshall, J.C. (2004) Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **35**, 199–227.
- Stephens, M. & Donnelly, P. (2003) A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction. *American Journal of Human Genetics*, **73**, 1162–1169.
- Stephens, M., Smith, N. J. & Donnelly, P. (2001) A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics*, **68**, 978.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, **28**, 2731–2739.
- Thomé, M.T., Zamudio, K.R., Giovanelli, J.G., Haddad, C.F.B., Baldissera, F.A., Jr & Alexandrino, J. (2010) Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **55**, 1018–1031.
- Valdujo, P.H., Silvano, D.L., Colli, G. & Martins, M. (2012) Anuran species composition and distribution patterns in Brazilian Cerrado, a neotropical hotspot. *South American Journal of Herpetology*, **7**, 63–78.
- Valdujo, P.H., Carnaval, A.C. & Graham, C.H. (2013) Environmental correlates of anuran beta diversity in the Brazilian Cerrado. *Ecography*, **36**, 708–717.
- Vieites, D.R., Wollenberg, K.C., Andreone, F., Kohler, J., Glaw, F. & Vences, M. (2009) Vast underestimation of Madagascar's biodiversity evidenced by an integrative amphibian inventory. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **106**, 8267–8272.
- Wallace, A.R. (1852) The monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London*, **20**, 107–110.
- Wang, X., Auler, A.S., Edwards, R.L., Cheng, H., Cristalli, P.S., Smart, P.L., Richards, D.A. & Shen, C.-C. (2004) Wet periods in northeastern Brazil over the past 210 kyr linked to distant climate anomalies. *Nature*, **432**, 740–743.
- Werneck, F.P., Gamble, T., Colli, G.R., Rodrigues, M.T. & Sites, J.W. (2012) Deep diversification and long-term persistence in the South American “Dry Diagonal”: integrating continent-wide phylogeography and distribution modeling of geckos. *Evolution*, **66**, 3014–3034.
- Wiens, J.J. & Donoghue, M.J. (2004) Historical biogeography, ecology and species richness. *Trends in Ecology and Evolution*, **19**, 639–644.
- Yu, Y., Harris, A.J. & He, X.J. (2011) RASP (*Reconstruct Ancestral State in Phylogenies*) 1.1. Available at: <http://mnh.scu.edu.cn/soft/blog/RASP>.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E. & Billups, K. (2001) Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science*, **292**, 686–693.
- Zappi, D.C., Sasaki, D., Milliken, W., Iva, J., Henicka, G.S., Biggs, N. & Frisby, S. (2011) Plantas vasculares da região do Parque Estadual Cristalino, norte de Mato Grosso, Brasil. *Acta Amazonica*, **41**, 29–38.

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Appendix S1 Samples, primers and information on models.

Appendix S2 Taxonomic considerations and species delimitation explanations.

Appendix S3 Fully expanded subtrees and networks.

BIOSKETCH

Antoine Fouquet's main research interests are the diversity and evolution of Neotropical herpetofauna.

Author contributions: A.F. and C.C. designed the study; A.F., C.C., M.T.R. and C.F.B.H. carried out the fieldwork; A.F. and C.C. conducted the laboratory work; A.F. and N.P. analysed the data, A.F. wrote the first complete version of the manuscript; all authors read and improved the manuscript.

Editor: Brent Emerson

APÊNDICE 2

Capítulo 1

Delimitação específica dos clados Thomei e Marmorata do gênero *Adenomera*
Steindachner, 1867 (Anura, Leptodactylidae)

MATERIAL EXAMINADO

Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados.

Apêndice 2. Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados (continua).

CA	Tecido	Testemunho	Espécie candidata	Espécie	Vocalização	Localidade	Estado	CytB	CO1	RAG	POMC	16S
467	CV 200	CV 200	cf. ajurauna	<i>A. ajurauna</i>	X	Miracatu	SP	X	X	X	X	X
18	CFBH-t 1906	CFBH 9123	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>		São Paulo, PESM, Núcleo Curucutu	SP		X	X	X	
137	CFBH-t 1910	CFBH 9128	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>	X	São Paulo, PESM, Núcleo Curucutu	SP	X	X	X	X	X
150	CFBH-t 5489	CFBH 16548	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>		Tapiraí	SP	X	X	X	X	
212	CFBH-t 12281	CFBH 25850	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>		Piedade	SP	X	X	X	X	
214	CFBH-t 12546	CFBH 26839	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>		São Paulo, Parque Ecológico do Guarapiranga	SP	X	X	X	X	
255	MZUSP field 1548		<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
289	UFMG-t 668	UFMG 2874	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>	X	Mogi das Cruzes Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	
313	UFMG-t 1737	UFMG 9473	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>	X	Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
314	UFMG-t 1738	UFMG 9474	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>	X	Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
352	BB 309		<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X		X	X	
368	BB 320		<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X		X	X	
394	CFBH-t 14304	BB 283	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>	X	Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	
407	CFBH-t 14299		<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X		
419	BB 291	BB 291	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>	X	Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X		X	X	X
464	MZUSPfield 1548	MZUSPfield 1548	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>	X	Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	X
473	CFBH-t 10502	CFBH 16793	cf. mamorata	<i>A. ajurauna</i>		Itanhaém	SP	X	X	X	X	
476	CFBH-t 7927	CFBH 19349	cf. mamorata	<i>A. ajurauna</i>		Itanhaém	SP	X	X	X	X	X
512	BB 460	BB460	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>	X	Parque das Neblinas	SP	X	X	X		X
551	BB 459	BB459	<i>A. ajurauna</i>	<i>A. ajurauna</i>	X	Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	
324	UFMG-t 2240	UFMG 10189	<i>A. araucaria</i>	<i>A. araucaria</i>	X	São Bento do Sul	SC	X	X	X	X	
325	UFMG-t 2241	UFMG 10190	<i>A. araucaria</i>	<i>A. araucaria</i>	X	São Bento do Sul	SC		X	X	X	X
45	CFBH-t 12585	CFBH 23216	<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>	X	Guarua	SC	X	X	X		
46	CFBH-t 12586	CFBH 23217	<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>	X	Guarua	SC	X	X	X	X	
329	UFMG-t 2269	UFMG 10269	<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>		Itapoá - RPPN Volta Velha	SC	X	X	X		
330	UFMG-t 2270	UFMG 10270	<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>	X	Itapoá - RPPN Volta Velha	SC	X	X	X	X	X
331	k 1733		<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>		Paranaguá, Fazenda Estadual Palmital	PR	X	X	X	X	
337	UFMG-t 2281	UFMG 10289	<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>		Paranaguá	PR	X	X	X	X	
338	UFMG-t 2282	UFMG 10290	<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>	X	Paranaguá	PR	X	X	X	X	
339	UFMG-t 2283	UFMG 10291	<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>		Paranaguá	PR	X	X	X	X	
381	K 1734		<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>		Paranaguá	PR	X	X	X	X	X
420	K 1731		<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>		Paranaguá	PR	X	X	X	X	X
442	K 1735		<i>A. bokermanni</i>	<i>A. bokermanni</i>		Paranaguá	PR	X	X	X		X
21	CFBH-t 3256		<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado	SC	X	X	X	X	
40	CFBH-t 8179	CFBH 18197	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Anitápolis	SC	X	X	X	X	
74	CFBH-t 12662	CFBH 22775	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Governador Celso Ramos, APA da Anhatomirim	SC	X	X	X	X	
122	MNRJ 72224	MNRJ 72224	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		São Bonifácio, Gruta São Francisco	SC		X	X	X	
125	MNRJ 72537	MNRJ 72537	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado, Sítio Soapé	SC	X	X	X	X	
127	MNRJ 72544	MNRJ 72544	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado, Sítio Soapé	SC	X	X	X	X	
141	CFBH-t 3256		<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado	SC	X	X	X	X	
216	CFBH-t 12662	CFBH 22775	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Governador Celso Ramos, APA da Anhatomirim	SC	X	X	X	X	X

Apêndice 2 (continuação). Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados.

CA	Tecido	Testemunho	Espécie candidata	Espécie	Vocalização	Localidade	Estado	CytB	CO1	RAG	POMC	16S
293	UFMG-t 802	UFMG 6966	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado - Sítio do Saulo	SC	X	X	X	X	X
294	UFMG-t 803	UFMG 6967	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado - Sítio do Saulo	SC	X	X	X	X	
295	UFMG-t 805	UFMG 6969	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado - Sítio do Saulo	SC	X	X	X	X	
296	UFMG-t 806	UFMG 6970	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado - Sítio do Saulo	SC	X	X	X	X	X
297	UFMG-t 827	UFMG 7001	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado - Sítio do Saulo	SC	X	X	X	X	
298	UFMG-t 828	UFMG 7002	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado - Sítio do Saulo	SC	X	X		X	
299	UFMG-t 832	UFMG 7017	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Rancho Queimado - Sítio do Saulo	SC	X	X	X	X	
301	UFMG-t 853	UFMG 7065	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>	X	São Bonifácio - Gruta São José	SC	X	X	X	X	X
305	UFMG-t 969	UFMG 7106	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Águas Mornas	SC	X	X	X	X	
306	UFMG-t 970	UFMG 7107	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>		Águas Mornas	SC	X	X	X	X	
336	UFMG-t 2280	UFMG 10288	<i>A. engelsi</i>	<i>A. engelsi</i>	X	Florianópolis - Naufragados	SC	X	X	X	X	
1	CFBH-t 6011	CFBH 15402	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela, Ilha de São Sebastião	SP	X	X	X	X	
2	CFBH-t 5823		<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha das Couves do Sul, município de São Sebastião	SP	X	X	X	X	
5	CFBH-t 3183		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Isabel, reserva Ibirapitanga	SP	X	X	X		
13	CFBH-t 14596		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Cachoeiras de Macacu	RJ	X	X	X	X	
14	CFBH-t 14597		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Grande	RJ	X	X	X	X	
16	CFBH-t 463	CFBH 6396	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Picinguaba, Ubatuba	SP		X	X	X	
20	CFBH-t 1965	CFBH 9212	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Cubatão, COPEBÁS	SP	X	X	X	X	
25	CFBH-t 3854		<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Itanhanhém	SP	X	X	X	X	
28	CFBH-t 3215		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Isabel, reserva Ibirapitanga	SP	X	X	X	X	
36	CFBH-t 7953		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Isabel	SP	X	X	X	X	
38	CFBH-t 8001		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Isabel	SP	X	X	X	X	
39	CFBH-t 8026		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Isabel	SP	X	X	X	X	
42	CFBH-t 11595	CFBH 23957	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Caieras	SP	X	X	X	X	
44	CFBH-t 11563	CFBH 23923	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Santos	SP	X	X	X	X	
48	CFBH-t 633		<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Alcatrazes	SP	X	X	X	X	
49	CFBH-t 3892	CFBH 12305	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Cubatão	SP	X		X	X	
50	CFBH-t 3908		<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		São Bernado do Campo	SP	X	X	X	X	
51	CFBH-t 3918	CFBH 12236	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Biritiba Mirim	SP	X	X	X	X	
60	BB	BB	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes	SP	X	X	X	X	
79	CTRU 55		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Itacuruça, Praia de águas Lindas, Mangaratiba	RJ	X	X	X	X	
97	CTRU 56		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Itacuruça, Praia de águas Lindas, Mangaratiba	RJ	X	X	X	X	
99	CTRU 57		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Itaguaí, Represa de Itigussu	RJ	X	X	X	X	X
101	CTRU130		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Grande, Estrada para Dois Rios, Angra dos Reis	RJ	X		X	X	X
118	MNRJ 47474	MNRJ 47474	<i>A. sp. A</i>	<i>A. marmorata</i>		Macaé, REBIO União	RJ	X	X	X	X	
120	MNRJ 53755	MNRJ 53755	<i>A. sp. K</i>	<i>A. marmorata</i>		Cachoeiras de Macacu	RJ	X	X	X		
131	MNRJ 74640	MNRJ 74640	<i>A. sp. K</i>	<i>A. marmorata</i>		Rio Claro, Lídice	RJ	X	X	X	X	
132	MNRJ 73063	MNRJ 73063	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Maricá, Espiraído	RJ	X	X		X	
143	CFBH-t 4310	CFBH 11355	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Cubatão	SP	X	X	X	X	
148	CFBH-t 5291	CFBH 15953	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Santos	SP	X	X	X	X	
152	CFBH-t 5520	CFBH 11542	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Cubatão, COPEBÁS	SP	X	X	X	X	

Apêndice 2 (continuação). Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados.

CA	Tecido	Testemunho	Espécie candidata	Espécie	Vocalização	Localidade	Estado	CytB	CO1	RAG	POMC	16S
157	CFBH-t 6063	CFBH 15434	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela, Ilha de São Sebastião	SP	X	X	X	X	
177	CFBH-t 7422	CFBH 17477	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela, Ilha de São Sebastião	SP	X	X	X	X	
184	CFBH-t 8006		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Isabel, Fazenda Pilões	SP	X		X	X	
186	CFBH-t 8702	CFBH 20218	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha das Couves, Município de São Sebastião	SP	X	X	X		
189	CFBH-t 8729	CFBH 12884	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha das Couves II, Município de Ubatuba	SP	X	X	X	X	
191	CFBH-t 8870	CFBH 12864	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha dos porcos pequena, Município de Ubatuba	SP		X	X		
193	CFBH-t 8952	CFBH 19969	<i>A. sp. K</i>	<i>A. marmorata</i>		Ubatuba, Instituto Agronômico	SP	X	X	X	X	
195	CFBH-t 8965	CFBH 20222	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha das Couves, Município de São Sebastião	SP	X	X	X	X	X
225	citog. 17.10	CFBH 11512	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Branca	SP	X	X	X	X	
228	citog. A735	CFBH 11532	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Branca	SP	X	X	X	X	
230	citog. A751	CFBH 11533	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Branca	SP	X	X	X	X	
232	citog. A752	CFBH 11534	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Branca	SP	X	X	X	X	
234	citog. A753	CFBH 11535	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Branca	SP	X	X	X	X	
237	citog. A756	CFBH 11536	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Santa Branca	SP	X	X	X	X	
239	nada consta livro tombo	CFBH 17137	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Alcatrazes	SP	X	X	X	X	
241	nada consta livro tombo	CFBH 17140	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Alcatrazes	SP	X	X	X	X	
242	nada consta livro tombo	CFBH 17138	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Alcatrazes	SP	X	X	X	X	
243	nada consta livro tombo	CFBH 17139	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Alcatrazes	SP	X	X	X	X	X
246	nada consta livro tombo	CFBH 17141	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Alcatrazes	SP	X	X	X	X	X
248	nada consta livro tombo	CFBH 17142	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Alcatrazes	SP	X	X	X	X	X
250	nada consta livro tombo	CFBH 17143	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha de Alcatrazes	SP	X	X	X	X	X
253	MZUSP field 1547		<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
257	MZUSP field 1549		<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
259	MZUSP field 1550		<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
260	MZUSP field 1568		<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	X
290	UFMG-t 677	UFMG 2708	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP		X	X	X	
291	UFMG-t 682	UFMG 2709	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X		
292	peca 06	UFMG 9353	<i>A. sp. K</i>	<i>A. marmorata</i>		Itatiaia - Pousada Chalés Terra Nova	RJ	X	X	X	X	
300	peca 07	UFMG 9354	<i>A. sp. K</i>	<i>A. marmorata</i>		Itatiaia - Pousada Chalés Terra Nova	RJ	X	X	X	X	
311	UFMG-t 1734	UFMG 9470	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
312	UFMG-t 1735	UFMG 9471	<i>A. sp. J</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
315	UFMG-t 2177	UFMG 10296	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Petrópolis	RJ	X	X	X	X	
316	UFMG-t 2178	UFMG 10297	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Petrópolis	RJ	X	X	X	X	X
317	UFMG-t 2179	UFMG 10298	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Guapimirim - PARNASO	RJ	X	X	X	X	
318	UFMG-t 2181	UFMG 10300	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Guapimirim - PARNASO	RJ	X	X	X	X	
319	UFMG-t 2183	UFMG 10302	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Guapimirim - PARNASO	RJ	X	X	X	X	X
320	UFMG-t 2185	UFMG 10304	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Guapimirim - PARNASO	RJ	X	X	X	X	
328	peca 10		<i>A. sp. K</i>	<i>A. marmorata</i>		Itatiaia - Pousada Chalés Terra Nova	RJ	X	X	X	X	
332	CFBH-t 14289	CFBH 27850	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Rio de Janeiro, PN Tijuca	RJ	X	X	X	X	
333	CFBH-t 14288	CFBH 27849	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Rio de Janeiro, PN Tijuca	RJ	X	X	X	X	
340	CFBH-t 14287	CFBH 27848	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Rio de Janeiro, PN Tijuca	RJ	X	X	X	X	

Apêndice 2 (continuação). Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados.

CA	Tecido	Testemunho	Espécie candidata	Espécie	Vocalização	Localidade	Estado	CytB	CO1	RAG	POMC	16S
342	MZUSP field 1568	MZUSP field 1568	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
344	CFBH-t 14292		A. sp. K	<i>A. marmorata</i>		Rio Claro, Parque Estadual do Cunhambebe	RJ	X	X	X	X	
345	CFBH-t 14286	CFBH 27847	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Rio de Janeiro, PN Tijuca	RJ	X	X	X	X	
347	CFBHt 16460	CFBH 32813	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ubatuba	SP		X	X		
349	CFBHt 462	CFBH 6395	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Picinguaba, Ubatuba	SP	X	X	X		
355	CFBHt 6278	CFBH 15494	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela	SP	X	X	X	X	X
356	CFBHt 16463	CFBH 32816	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Itanhanhém	SP	X	X	X	X	
359	CFBHt 16461	CFBH 32815	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Picinguaba, Ubatuba	SP	X		X	X	
362	BB 296	BB 296	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>	X	Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	X
364	CFBHt 8730	CFBH 12886	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Ilha das Couves	SP		X	X	X	X
366	CFBHt 6047	CFBH 15416	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela	SP	X	X	X	X	X
370	CFBHt 16462	CFBH 32814	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Picinguaba, Ubatuba	SP	X		X		X
374	CFBHt 8896	CFBH 19975	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ubatuba	SP			X		
376	BB 321	BB 321	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	
378	BB 292	BB 292	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	
380	MZUSPfield 1547	MZUSPfield 1547	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X		X
382	CFBHt 7399	CFBH 17451	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela	SP	X		X		
384	CFBHt 14296		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Cachoeiras de Macacu	RJ	X	X	X	X	
386	CFBHt 14297		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Cachoeiras de Macacu	RJ	X	X	X		X
388	CFBHt 14305		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Cachoeiras de Macacu	RJ	X	X	X	X	X
390	CFBHt 14302		A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X		
392	CFBHt 14303	BB 282	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>	X	Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	
396	CFBHt 14290	LAF34	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Guapimirim - PARNASO	RJ	X	X	X	X	
398	CFBHt 14285	CFBH 27846	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Rio de Janeiro, PN Tijuca	RJ	X	X	X	X	
402	CFBHt 14291		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Rio de Janeiro, PN Tijuca	RJ	X	X	X	X	X
406	CFBHt 14306	CCT 35	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Rio de Janeiro, PN Tijuca	RJ	X	X	X		
409	CFBHt 14314	CCT 31	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Rio de Janeiro, PN Tijuca	RJ	X	X	X		
411	CFBHt 14300	BB272	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X		
413	CFBHt 14307	CCT 25	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Rio de Janeiro, PN Tijuca	RJ	X	X	X		X
414	CFBHt 14575	BB 276	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>	X	Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X		
417	CFBHt 14301	MZUSP field 1579	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	X
421	Davor	Davor	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Cachoeiras de Macacu	RJ	X	X	X	X	
422	CFBHt 16464	CFBH 32818	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X		X		
425	BB 319	BB 319	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>	X	Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	
429	BB 315	BB 315	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	
432	CFBHt 14293		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Cachoeiras de Macacu	RJ	X		X		X
434	CFBHt 14294		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Cachoeiras de Macacu	RJ	X	X	X	X	
436	CFBHt 14295		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Cachoeiras de Macacu	RJ	X		X		
437	BB 311	BB 311	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>	X	Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X	X	X	X	X
439	CFBHt 8970	CFBH 19968	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>		Ubatuba	SP	X	X	X	X	
443	CFBHt 6120	CFBH 15443	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela	SP	X	X	X	X	

Apêndice 2 (continuação). Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados.

CA	Tecido	Testemunho	Espécie candidata	Espécie	Vocalização	Localidade	Estado	CytB	CO1	RAG	POMC	16S
445	MZUSPfield 1549	MZUSPfield 1549	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	X
448	CFBHt 6289	CFBH 15500	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela	SP	X	X	X		
450	CFBHt 6450	CFBH 15542	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela	SP	X	X	X	X	X
452	CFBHt 6101	CFBH 15409	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela	SP	X	X	X	X	
454	CFBHt 6288	CFBH 15497	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Ilha Bela	SP	X	X	X	X	
455	CFBHt 16459	CFBH 32811	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Itanhanhém	SP	X	X	X	X	X
456	CFBHt 16466	CFBH 32820	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X		X	X	
458	CFBHt 16465	CFBH 32819	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Mogi das Cruzes, Parque das Neblinas	SP	X		X	X	
459	MZUSPfield 1550	MZUSPfield 1550	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		Paranapiacaba	SP	X	X	X	X	
465	PPGT 529	CFBH 35983	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Muriae	MG	X	X	X	X	X
469	CFBHt 5853		<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>		Biritiba Mirim	SP	X	X	X	X	
475	CFBHt 16981	CFBH 34411	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Maricá	RJ	X	X	X	X	
479	CFBHt 8938		A. sp. K	<i>A. marmorata</i>		Ubatuba	SP	X	X	X	X	
481	CFBHt 8967	CFBH 20219	A. sp. J	<i>A. marmorata</i>		São Sebastião	SP	X	X	X	X	
485	CFBHt 16961	CFBH 34391	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Maricá	RJ	X	X	X	X	
487	CFBHt 16969	CFBH 34402	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Rio de Janeiro	RJ	X	X	X	X	
491	PPGT 493	PPGT 493	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Ubatuba, praia vermelha	SP	X	X	X	X	
495	PPGT 487	PPGT 487	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	São Luiz do Paraitinga	SP	X	X	X	X	X
496	CFBHt 16974	CFBH 34404	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Rio de Janeiro	RJ	X	X	X	X	X
502	PPGT 491	PPGT 491	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	São Luiz do Paraitinga	SP	X	X	X	X	
506	PPGT 488	PPGT 488	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	São Luiz do Paraitinga	SP	X	X	X	X	
510	PPGT 489	PPGT 489	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Ubatuba	SP	X	X	X		
513	UFMG-T 2706	UFMG 13285	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	ITATIAIA	RJ	X	X	X	X	
514	CFBHt 16981	CFBH 34411	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	rio de janeiro	RJ	X	X	X	X	
516	PPGT 490	PPGT 490	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>		São Luiz do Paraitinga	SP		X	X	X	X
520	CFBHt 16979	CFBH 34409	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	rio de janeiro	RJ	X	X	X	X	X
521	UFMGt 2711	UFMG 13290	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	ITATIAIA	RJ	X	X	X	X	
524	PPGT 496	PPGT 496	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>		Ubatuba	SP	X	X	X	X	
527	UFMGt 2708	UFMG 13287	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Itatiaia	RJ	X	X	X		
528		CFBH 36131	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Nazaré Paulista	SP	X	X	X	X	X
530	PPGT 492	PPGT 492	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Ubatuba, praia vermelha	SP	X	X	X	X	X
534	PPGT 497	PPGT 497	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Ubatuba	SP	X	X	X	X	
537	UFMGt 2710	UFMG 13289	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Itatiaia	RJ	X	X	X	X	X
541	CFBHt 16963	CFBH 34389	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Maricá	RJ	X	X	X	X	X
543	UFMGt 2705	UFMG 13284	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Itatiaia	RJ	X	X	X	X	
545	UFMGt 2709	UFMG 13288	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Itatiaia	RJ	X	X	X	X	
548	UFMGt 2707	UFMG 13286	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>		Itatiaia	RJ	X	X	X		
550	UFMGt 2712	UFMG 13291	A. sp. K	<i>A. marmorata</i>	X	Itatiaia	RJ	X	X	X	X	X
553		CFBH 36132	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Nazaré Paulista	SP	X	X	X	X	
556		CFBH 36130	<i>A. marmorata</i>	<i>A. marmorata</i>	X	Nazaré Paulista	SP	X	X	X	X	X
54	CFBH-t 8163	CFBH 18170	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>		Blumenau	PR	X	X	X	X	

Apêndice 2 (continuação). Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados.

CA	Tecido	Testemunho	Espécie candidata	Espécie	Vocalização	Localidade	Estado	CytB	CO1	RAG	POMC	16S
139	CFBH-t 3251		<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>		São Bento do Sul	SC		X	X	X	
221	CFBH-t 13134	CFBH 27478	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>		Guaramirim, Estrada entre Guaramirim e Jaraguá do Sul	SC	X	X	X	X	
223	CFBH-t 13135	CFBH 27479	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>		Guaramirim, Estrada entre Guaramirim e Jaraguá do Sul	SC	X	X	X	X	
308	UFMG-t 1624	UFMG 8969	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>		São Francisco do Sul	SC	X	X	X	X	
323	UFMG-t 2239	UFMG 10188	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>	X	São Bento do Sul	SC	X	X	X	X	X
334	UFMG-t 2276	UFMG 10279	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>	X	São Francisco do Sul - Vila da Glória	SC	X	X	X	X	X
335	UFMG-t 2277	UFMG 10280	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>	X	São Francisco do Sul - Vila da Glória	SC	X	X	X	X	X
360	CFBHt 13136	CFBH 27480	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>		Guaramirim	SC	X	X	X		
367	CFBHt 13137	CFBH 27481	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>		Guaramirim	SC	X	X	X	X	
373	CFBHt 13138	CFBH 27482	<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>		Guaramirim	SC	X	X	X	X	X
555		imago	<i>A. thomei</i>	<i>A. nana</i>		Guaramirim	SC	X	X	X	X	
29	CFBH-t 4243	CFBH 13478	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Guapiara	SP	X	X	X	X	
30	CFBH-t 7331	CFBH 17957	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Paríquera	SP	X	X	X	X	
31	CFBH-t 7333	CFBH 17959	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	
47	CFBH-t 12590	CFBH 23221	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>	X	Guaratuba	PR	X	X	X	X	
56	CFBH-t 10643	CFBH 22332	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Paríquera-Açu, Parque Estadual Campina Encantado	SP	X	X	X	X	
58	CFBH 12681	CFBH 26872	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Ribeirão Grande, Fazenda Intermontes	SP	X	X	X	X	
68	CFBH-t 10262	CFBH 21318	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>	X	Guaruva, fazenda Creminácio, Serra do Araraquara	PR	X		X	X	
70	CFBH-t 10262	CFBH 21318	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>	X	Guaruva, fazenda Creminácio, Serra do Araraquara	PR	X	X	X	X	
147	CFBH-t 5243	CFBH 15841	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	
154	CFBH-t 5875		<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Peruíbe, E.E. Jureia Itatins	SP	X	X	X	X	
159	CFBH-t 6953	CFBH 17005	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Paríquera Açu	SP	X	X	X	X	
163	CFBH-t 6975	CFBH 17028	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	
168	CFBH-t 6995	CFBH 17053	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
170	CFBH-t 7058	CFBH 17116	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	
205	CFBH-t 10606	CFBH 22333	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	
207	CFBH-t 10618	CFBH 22354	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	
218	CFBH-t 12681	CFBH 26872	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Ribeirão Grande, Fazenda Intermontes	SP	X	X	X	X	
346	Canedo 040	Canedo 040	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	
354	CFBHt 10632	CFBH 22468	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
372	CFBHt 10602	CFBH 22327	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
377	Canedo 033	Canedo 033	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	
379	Canedo 032	Canedo 032	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	
389	CFBHt 8693	CFBH 19140	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Iguape	SP	X	X	X	X	X
399	CFBHt 10633	CFBH 22469	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
401	CFBHt 7149	CFBH 17796	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
410	CFBHt 12590	CFBH 23221	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>	X	Guaratuba	PR			X		X
415	CFBHt 10678	CFBH 19604	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Ilha de Cananéia	SP	X		X	X	X
444	CFBHt 7332	CFBH 17958	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Paríquera-Açu	SP	X	X	X		
449	CFBHt 12921	CFBH 27148	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>	X	Ribeirão Grande	SP	X	X	X	X	X
457	CFBHt 16467	CFBH 32821	<i>A. sp. S</i>	<i>A. sp. "canto curto"</i>		Peruíbe	SP	X	X	X	X	

Apêndice 2 (continuação). Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados.

CA	Tecido	Testemunho	Espécie candidata	Espécie	Vocalização	Localidade	Estado	CytB	CO1	RAG	POMC	16S
470	CFBHt 4245	CFBH 13479	A. sp. S	A. sp. "canto curto"		Guapiara	SP	X	X	X	X	X
489	PPGT 462	PPGT 462	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Miracatu	SP	X	X	X	X	
493	PPGT 464	PPGT 464	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Miracatu	SP	X	X	X	X	
498	PPGT 474	PPGT 474	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Iguape	SP	X	X	X	X	
500	PPGT 475	PPGT 475	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Miracatu	SP	X	X	X	X	
504	PPGT 476	PPGT 476	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Iguape	SP	X	X	X		
508	PPGT 477	PPGT 477	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Iguape	SP	X	X	X	X	X
518	PPGT 480	PPGT 480	A. sp. S	A. sp. "canto curto"		Iguape	SP	X	X	X	X	X
522	CV 199	CV 199	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Miracatu	SP	X		X		
526	PPGT 472	PPGT 472	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Miracatu	SP	X	X	X	X	
532	CV 202	CV 202	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Iguape	SP	X	X	X	X	X
538	PPGT 463	PPGT 463	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Miracatu	SP	X	X	X	X	X
546	PPGT 479	PPGT 479	A. sp. S	A. sp. "canto curto"	X	Iguape	SP	X	X	X	X	X
552	CFBHt 35915	CFBH 35917	A. sp. S	A. sp. "canto curto"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X	X	X
302	UFMG-t 854	UFMG 7066	A. sp. R	A. sp. "catarinense"	X	São Bonifácio - Gruta São José	SC	X	X	X	X	
303	UFMG-t 863	UFMG 7080	A. sp. R	A. sp. "catarinense"	X	florianópolis - Poção	SC	X	X	X	X	
307	UFMG-t 974	UFMG 7111	A. sp. R	A. sp. "catarinense"	X	florianópolis - Poção	SC	X	X	X	X	X
24	CFBH-t 7321	CFBH 17943	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X		
55	CFBH-t 10592	CFBH 22324	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha Comprida	SP	X	X	X	X	
145	CFBH-t 5225	CFBH 15837	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
161	CFBH-t 6959	CFBH 17011	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Iguape	SP	X	X	X	X	
164	CFBH-t 6990	CFBH 17047	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Iguape	SP	X	X	X	X	
166	CFBH-t 6992	CFBH 17049	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Iguape	SP	X	X	X	X	
173	CFBH-t 7266	CFBH 17888	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X	X	
175	CFBH-t 7282	CFBH 17904	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
202	CFBH-t 10601	CFBH 22326	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
209	CFBH-t 10673	CFBH 19595	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X	X	
211	CFBH-t 10675	CFBH 19597	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Iguape	SP		X	X	X	
350	CFBHt 10630	CFBH 22466	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
358	CFBHt 8631	CFBH 19075	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X		
361	CFBHt 7281	CFBH 17903	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
365	CFBHt 10613	CFBH 22348	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
369	CFBHt 10612	CFBH 22347	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	X
375	CFBHt 8680	CFBH 19126	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	X
383	CFBHt 8632	CFBH 19076	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	X
385	CFBHt 8682	CFBH 19128	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
387	CFBHt 8692	CFBH 19139	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Iguape	SP	X	X	X	X	
391	CFBHt 9725	CFBH 19977	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP			X		
393	CFBHt 10627	CFBH 22363	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X	X	
395	CFBHt 10628	CFBH 22364	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X	X	
397	CFBHt 10673	CFBH 19595	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X	X	

Apêndice 2 (continuação). Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados.

CA	Tecido	Testemunho	Espécie candidata	Espécie	Vocalização	Localidade	Estado	CytB	CO1	RAG	POMC	16S
403	CFBHt 8641	CFBH 19085	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
405	CFBHt 5238	CFBH 15839	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X		
408	CFBHt 10631	CFBH 22467	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X		X
412	CFBHt 7282	CFBH 17904	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X		X
416	CFBHt 8681	CFBH 19127	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
423	CFBHt 7266	CFBH 17888	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X		
426	CFBHt 7241	CFBH 17765	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X	X	X
428	CFBHt 7260	CFBH 17870	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X	X	
431	CFBHt 8457	CFBH 18893	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha Comprida	SP	X	X	X	X	X
433	CFBHt 8459	CFBH 18895	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
435	CFBHt 8568	CFBH 19002	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	
440	CFBHt 5239	CFBH 15838	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X		
446	CFBHt 8536	CFBH 18972	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha de Cananéia	SP	X	X	X	X	X
451	CFBHt 7222	CFBH 17746	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Ilha do Cardoso	SP	X	X	X		X
453	CFBHt 16458	CFBH 32861	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Itanhém	SP	X	X	X		
472	CFBHt 12585	CFBH 23216	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Guaruva	PR	X	X	X		X
486	CFBH 35777	CFBH 35777	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"	X	Iguape	SP	X	X	X	X	X
488	PPGT 473	CFBH 35851	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"		Miracatu	SP	X	X	X	X	
490	CV 201	CFBH 35828	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"	X	Miracatu	SP	X	X	X	X	X
494	-	CFBH 35778	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"	X	Iguape	SP	X	X	X	X	X
497	CFBH 35779	CFBH 35779	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"	X	Iguape	SP	X	X	X	X	X
536	CFBHt 16435	CFBH 32327	A. sp. O	A. sp. "sambaqui"	X	Itanhém	SP	X	X	X	X	X
3	CFBH-t 9050	CFBH 19469	A. thomei	A. thomei		Linhares	ES		X	X	X	
22	BB 161	BB 161	A. thomei	A. thomei	X	Mogi das Cruzes	SP	X	X	X	X	
26	BB 162	BB 162	A. thomei	A. thomei	X	Mogi das Cruzes	SP	X	X	X	X	
32	CFBH-t 7465		A. thomei	A. thomei		Cardeal Mota	MG			X	X	
34	CFBH-t 7497		A. thomei	A. thomei		Varginha	MG		X	X	X	
35	CFBH-t 7518		A. thomei	A. thomei		Paraguaçu	MG	X		X	X	
52	CFBH-t 9058	CFBH 18061	A. thomei	A. thomei		Linhares	ES	X	X	X	X	
53	CFBH-t 9062	CFBH 18066	A. thomei	A. thomei		Linhares	ES	X	X	X	X	
75	CTRU 22		A. thomei	A. thomei		Rio das Ostras, Fazenda das Garças	RJ	X	X	X	X	
77	CTRU 23		A. thomei	A. thomei		Rio das Ostras, Fazenda das Garças,	RJ	X	X	X	X	
116	MNRJ 47473	MNRJ 47473	A. thomei	A. thomei		Macaé, REBIO União	RJ	X	X	X	X	X
179	CFBH-t 7517		A. thomei	A. thomei		Paraguaçu	MG	X	X	X	X	
180	CFBH-t 7529		A. thomei	A. thomei		Cardeal Mota	MG	X	X	X	X	
182	CFBH-t 7530		A. thomei	A. thomei		Varginha	MG			X		
196	CFBH-t 9066	CFBH 18070	A. thomei	A. thomei		Linhares, Povoação, Plantação de Cacau	ES	X	X	X	X	
198	CFBH-t 10573	CFBH 22295	A. thomei	A. thomei		Mimoso do Sul	ES	X	X	X		X
227	citog. 56.2	CFBH 11531	A. thomei	A. thomei		Santa Branca	SP	X	X	X	X	X
286	UFMG-t 111	UFMG-A 3999	A. thomei	A. thomei		Santa Bárbara	MG		X	X	X	X
304	UFMG-t 919	UFMG 3745	A. thomei	A. thomei		Varginha	MG	X	X	X	X	X

Apêndice 2 (continuação). Número de extração (CA), tecidos senquenciados, material examinado, Vocalizações analisadas e fragmentos amplificados.

CA	Tecido	Testemunho	Espécie candidata	Espécie	Vocalização	Localidade	Estado	CytB	CO1	RAG	POMC	16S
309	UFGM-t 1732	UFGM 9468	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Mogi das Cruzes - Parque municipal Leon Feffer	SP	X	X	X	X	
321	UFGM-t 2189	UFGM 10305	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Santana do Riacho PARNA Cipó	MG	X	X	X	X	
322	UFGM-t 2190	UFGM 10306	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Santana do Riacho PARNA Cipó	MG	X	X	X	X	
326	peca 08	UFGM 9354	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>	X	Itatiaia - E. Ferroviária Campo Belo	RJ	X	X	X	X	
327	peca 09	UFGM 9355	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>	X	Itatiaia - E. Ferroviária Campo Belo	RJ	X	X	X	X	
341	UFGM-t 2288	UFGM 9422	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>	X	Santana do Riacho PARNA Cipó	MG		X	X	X	X
343	CFBH-t 14618	CFBH 29532	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>	X	Botucatu - Fazenda do William	SP	X	X	X	X	X
348	CFBHt 15759	CFBH 32101	<i>A. sp. M</i>	<i>A. thomei</i>	X	Camacan	BA		X	X		X
357	CFBHt 15801	CFBH 32074	<i>A. sp. L</i>	<i>A. thomei</i>	X	Igrapiúna	BA	X	X	X		
363	CFBHt 15797	CFBH 32070	<i>A. sp. L</i>	<i>A. thomei</i>		Igrapiúna	BA		X	X	X	
371	CFBHt 15815	CFBH 32102	<i>A. sp. M</i>	<i>A. thomei</i>	X	Camacan	BA		X	X	X	
418	CFBHt 15800	CFBH 32073	<i>A. sp. L</i>	<i>A. thomei</i>	X	Igrapiúna	BA	X	X	X		X
424	CFBHt 15799	CFBH 32072	<i>A. sp. L</i>	<i>A. thomei</i>		Igrapiúna	BA	X	X	X	X	
427	CFBHt 15796	CFBH 32069	<i>A. sp. L</i>	<i>A. thomei</i>	X	Igrapiúna	BA	X	X	X		X
430	CFBHt 15803	CFBH 32076	<i>A. sp. L</i>	<i>A. thomei</i>		Igrapiúna	BA		X	X	X	
438	CFBHt 15802	CFBH 32075	<i>A. sp. L</i>	<i>A. thomei</i>		Igrapiúna	BA	X	X	X	X	
447	CFBHt 15798	CFBH 32071	<i>A. sp. L</i>	<i>A. thomei</i>	X	Igrapiúna	BA	X	X	X	X	
466	CFBHt 15919		<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Monte Mor	SP		X	X		
468	CFBHt 7450		<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Varginha	MG	X	X	X	X	
474	CFBHt 16982	CFBH 34413	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>	X	Itatiaia	RJ	X	X	X	X	
480	CFBHt 17725	CFBH 34958	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		campinas	SP	X	X	X	X	
492	CFBHt 17766	CFBH 35748	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Campinas	SP		X	X	X	
501	CFBHt 7477		<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Varginha	MG	X	X	X	X	
503	CFBHt 7456		<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Paraguaçu	MG		X	X	X	
505	CFBHt 15855		<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>	X	Itatiaia	RJ	X	X	X	X	X
507	CFBHt 15854		<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Itatiaia	RJ	X	X	X	X	
511	CFBHt 16984	CFBH 34414	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>	X	Itatiaia	RJ	X	X	X	X	
515	CFBHt 17888	CFBH 35875	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Campinas	SP	X	X	X	X	
517	CFBHt 17887	CFBH 35874	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Campinas	SP		X	X		
554		girino	<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Itatiaia	RJ	X	X	X	X	
558	CFBHt 15920		<i>A. thomei</i>	<i>A. thomei</i>		Monte Mor	SP		X	X		
43	CFBH-t 10240	CFBH 21301	<i>A. sp. N</i>			Morretes	PR	X	X	X	X	
65	CFBH-t 10240	CFBH 21301	<i>A. sp. N</i>			Morretes, São João da Graciosa	PR	X	X	X	X	
72	CFBH-t 10241	CFBH 21302	<i>A. sp. N</i>			Morretes, São João da Graciosa	PR	X	X	X	X	
351	BB 23	CFBH 23182	<i>A. sp. N</i>			Morretes	PR		X	X		
353	BB 24	CFBH 23183	<i>A. sp. N</i>			Itupava	PR	X	X	X		X
478	CFBHt 17366	CFBH 34435	<i>A. sp. N</i>			Quatro Barras	PR		X	X	X	
484	CFBHt 17367	CFBH 34436	<i>A. sp. N</i>			Quatro Barras	SP	X	X	X	X	X

APÊNDICE 3

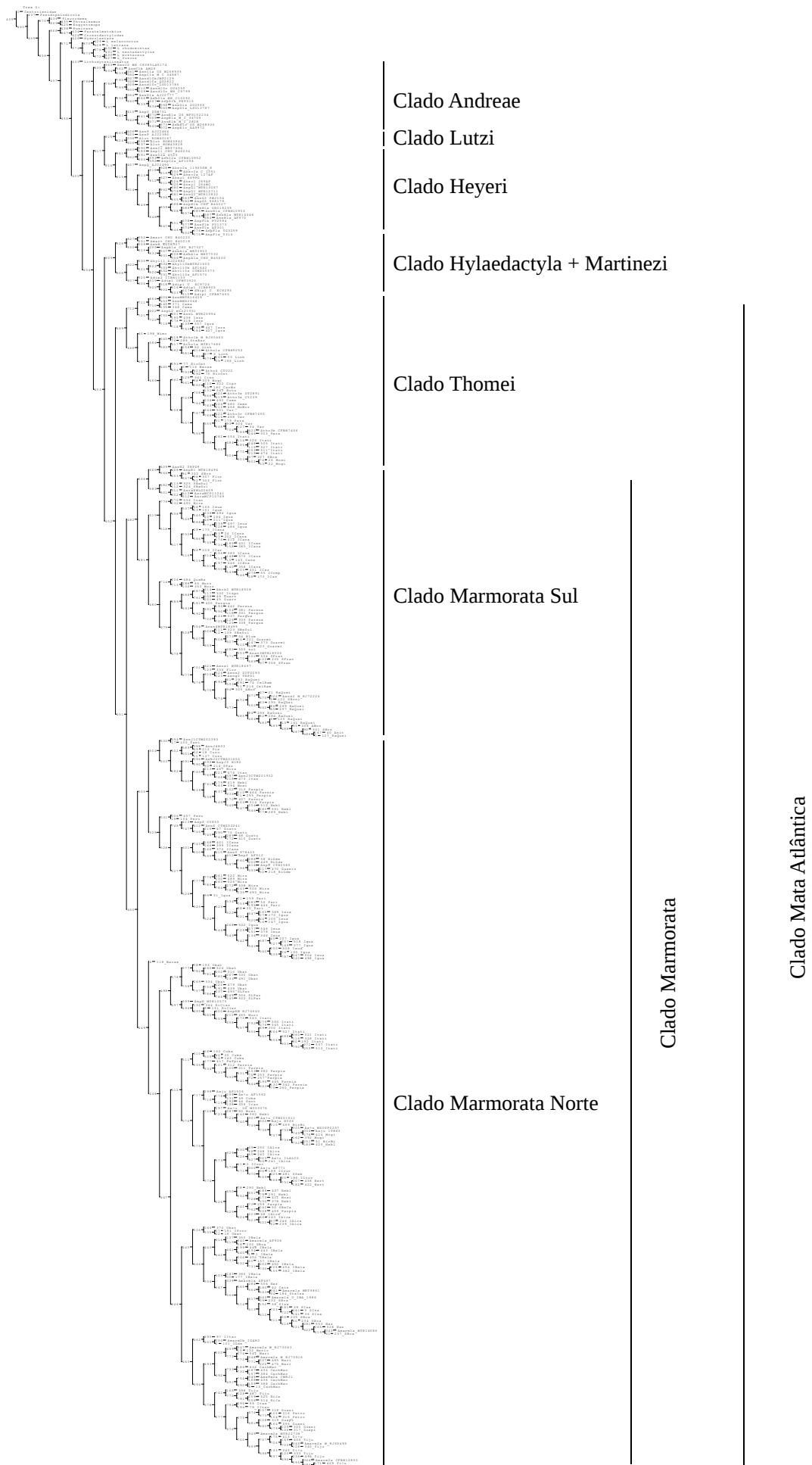
Capítulo 1

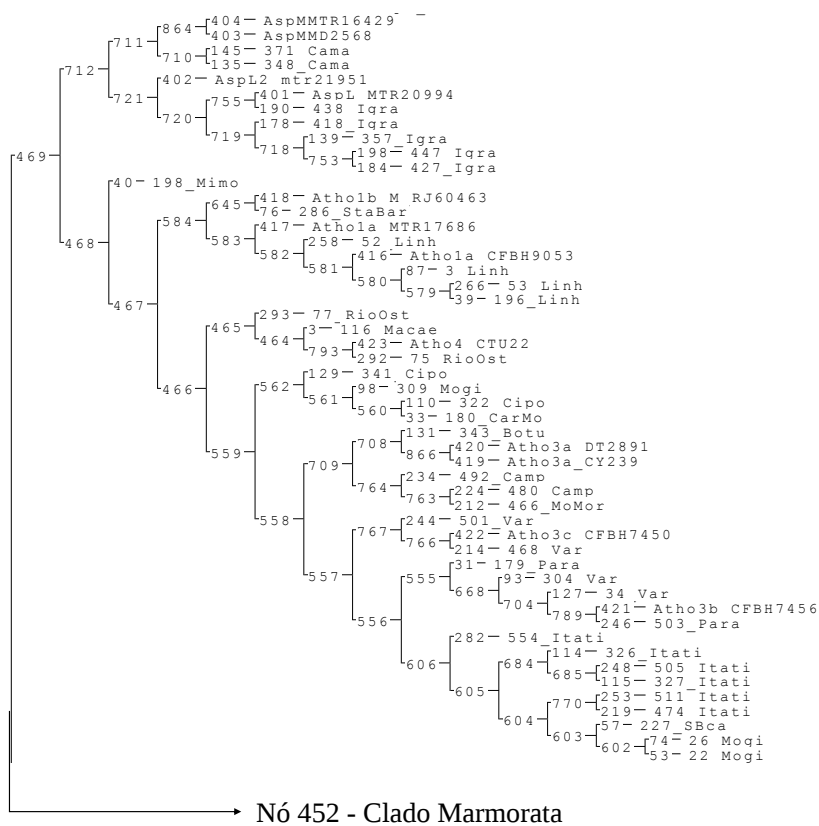
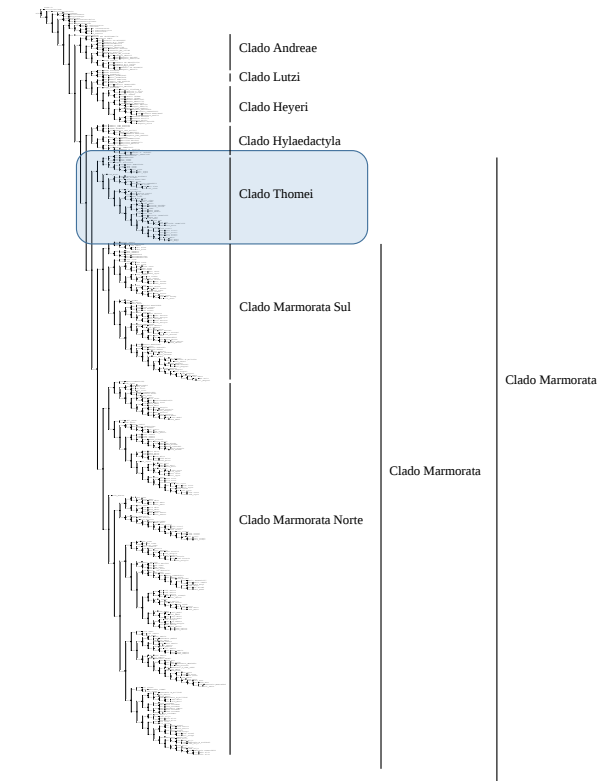
Delimitação específica dos clados Thomei e Marmorata do gênero *Adenomera* Steindachner,
1867 (Anura, Leptodactylidae)

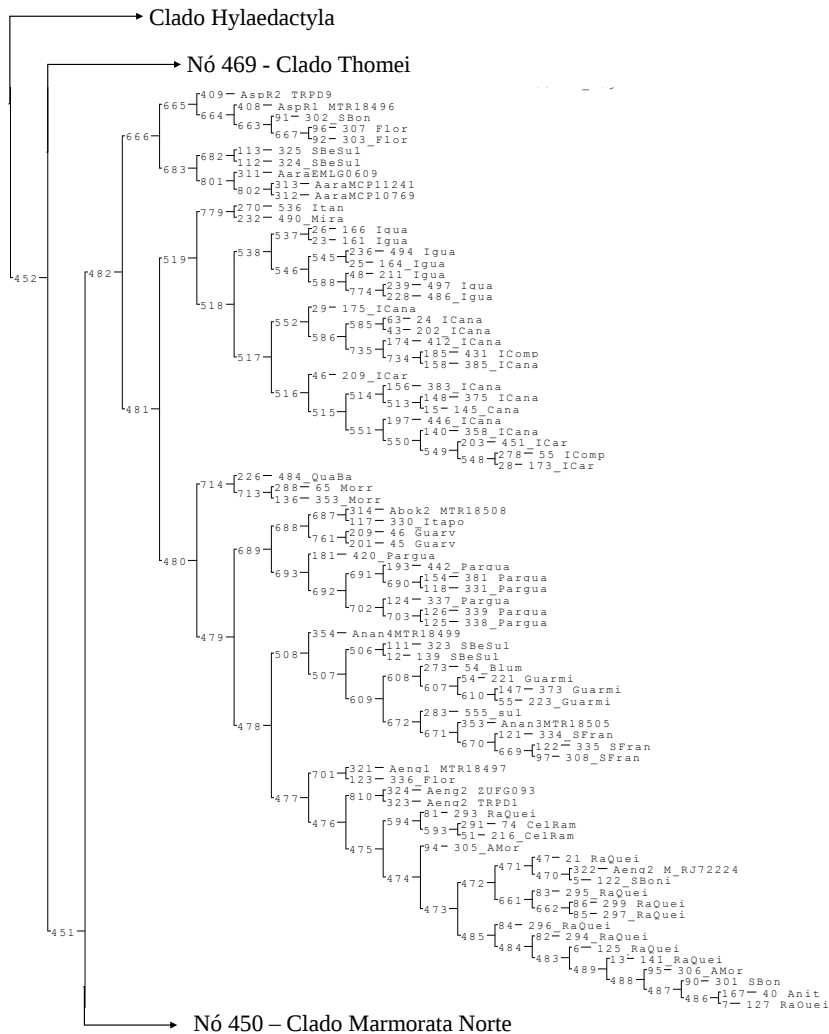
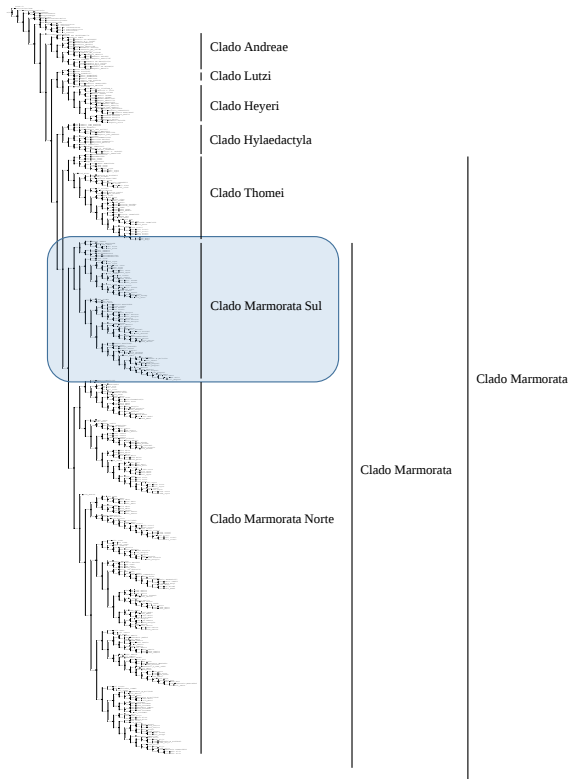
LISTA DE SINAPOMORFIAS MOLECULARES

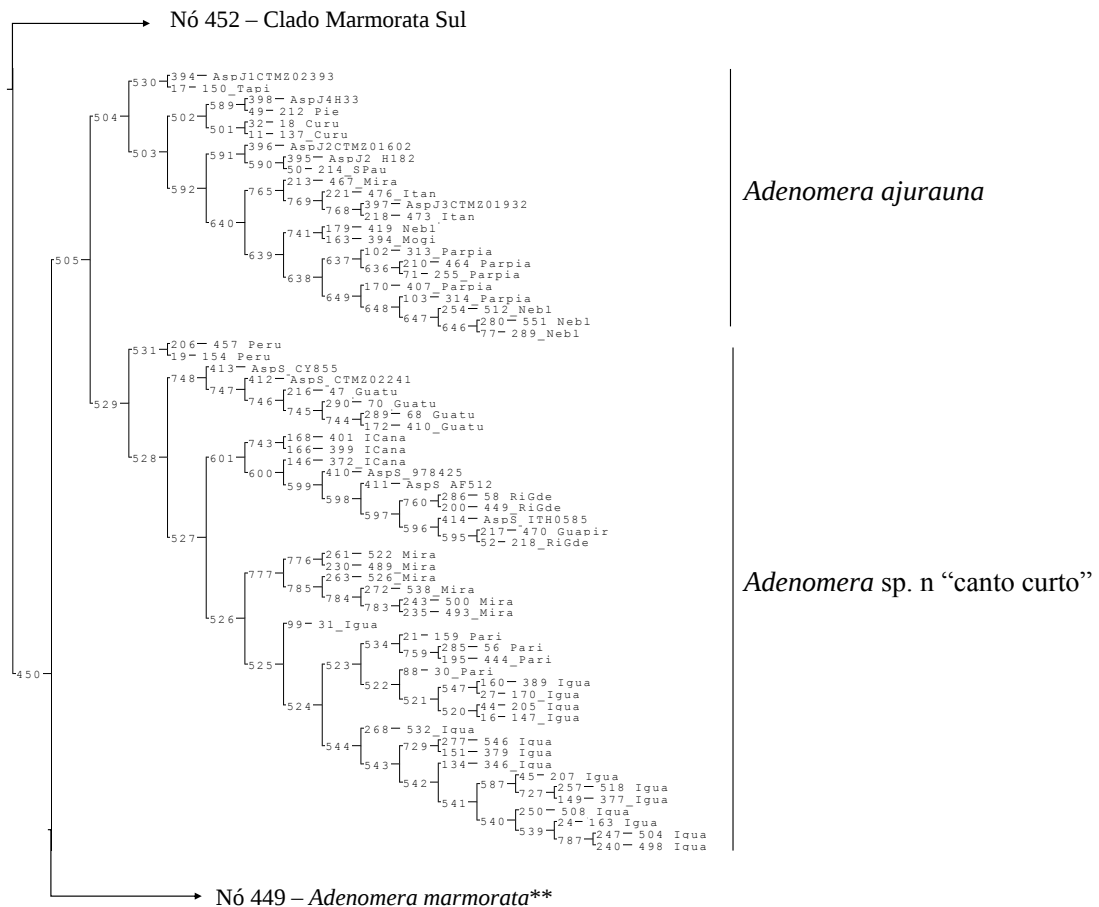
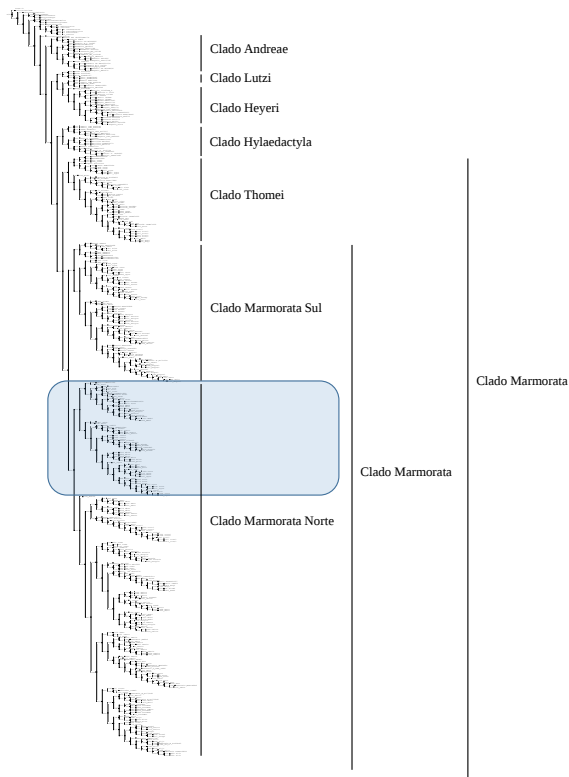
Número dos nós da árvore consenso strito, nome do clado correspondente e sinapomorfias
moleculares

Apêndice 3a. Árvore consenso strito. Números nos ramos correspondem ao números dos clados









[illegible]

Adenomera marmorata
(= *Adenomera* sp. K)

Adenomera marmorata
(= *Adenomera* sp. J)

Apêndice 3b. Número dos nós da árvore consenso strito e o nome do clado correspondente

Nó #	Clado
4	<i>Adenomera</i> sp. A (=A. <i>marmorata</i> **)
446	<i>Adenomera marmorata</i> *
447	<i>Adenomera marmorata</i> * + A. sp. J (=A. <i>marmorata</i> **)
448	<i>Adenomera marmorata</i> * + A. sp. J + A. sp. K (=A. <i>marmorata</i> **)
449	<i>Adenomera marmorata</i> **
450	Marmorata Norte
451	Marmorata
452	Mata Atlântica
468	<i>Adenomera thomei</i> *
469	<i>Adenomera thomei</i> **
477	<i>Adenomera engelsi</i>
478	<i>Adenomera nana</i> + A. <i>engelsi</i>
479	<i>Adenomera bokermanni</i> + A. <i>nana</i> + A. <i>engelsi</i>
480	<i>Adenomera</i> sp. N + A. <i>bokermanni</i> + A. <i>nana</i> + A. <i>engelsi</i>
481	<i>Adenomera</i> sp. “sambaqui” + A. sp. N + A. <i>bokermanni</i> + A. <i>nana</i> + A. <i>engelsi</i>
482	Marmorata Sul
498	<i>Adenomera</i> sp. K (=A. <i>marmorata</i> **)
504	<i>Adenomera ajurauna</i>
505	<i>Adenomera ajurauna</i> + A. sp. “canto curto”
508	<i>Adenomera nana</i>
512	<i>Adenomera</i> sp. J (=A. <i>marmorata</i> **)
519	<i>Adenomera</i> sp. “sambaqui”
529	<i>Adenomera</i> sp. “canto curto”
665	<i>Adenomera</i> sp. “catarinense”
666	<i>Adenomera araucaria</i> + A. sp. “catarinense”
683	<i>Adenomera araucaria</i>
689	<i>Adenomera bokermanni</i>
711	<i>Adenomera</i> sp. M (= A. <i>thomei</i> **)
712	<i>Adenomera</i> sp. L + A. sp. M (= A. <i>thomei</i> **)
714	<i>Adenomera</i> sp. N
721	<i>Adenomera</i> sp. L (= A. <i>thomei</i> **)

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso (continua).

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação	Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
4	99	12s/16S	A --> G	4	1770	12s/16S	A --> G
4	115	12s/16S	T --> C	4	1796	12s/16S	A --> C
4	137	12s/16S	T --> C	4	1817	12s/16S	A --> G
4	139	12s/16S	T --> C	4	1851	12s/16S	C --> T
4	140	12s/16S	A --> C	4	1979	12s/16S	T --> C
4	236	12s/16S	A --> G	4	2040	12s/16S	A --> G
4	278	12s/16S	C --> T	4	2057	12s/16S	G --> A
4	678	12s/16S	T --> C	4	2073	12s/16S	A --> G
4	684	12s/16S	C --> T	4	2124	12s/16S	G --> A
4	725	12s/16S	G --> A	4	2187	12s/16S	C --> A
4	754	12s/16S	C --> T	4	2193	12s/16S	A --> G
4	786	12s/16S	T --> A	4	2219	12s/16S	T --> C
4	841	12s/16S	C --> T	4	2226	12s/16S	C --> G
4	852	12s/16S	T --> C	4	2242	12s/16S	A --> G
4	909	12s/16S	A --> G	4	2270	12s/16S	A --> G
4	911	12s/16S	T --> C	4	2296	12s/16S	G --> A
4	912	12s/16S	A --> G	4	2304	12s/16S	T --> C
4	1000	12s/16S	C --> T	4	2308	12s/16S	C --> T
4	1021	12s/16S	C --> G	4	2310	12s/16S	T --> A
4	1037	12s/16S	T --> C	4	2321	12s/16S	C --> T
4	1040	12s/16S	T --> C	4	2366	12s/16S	T --> C
4	1041	12s/16S	T --> C	4	2378	12s/16S	A --> G
4	1056	12s/16S	T --> C	4	214	COI	T --> C
4	1078	12s/16S	A --> G	4	238	COI	C --> A
4	1094	12s/16S	C --> T	4	250	COI	C --> G
4	1097	12s/16S	A --> T	4	271	COI	C --> T
4	1098	12s/16S	T --> C	4	286	COI	G --> A
4	1099	12s/16S	T --> C	4	307	COI	T --> G
4	1107	12s/16S	T --> C	4	313	COI	A --> G
4	1124	12s/16S	T --> C	4	367	COI	T --> C
4	1159	12s/16S	A --> T	4	397	COI	G --> A
4	1167	12s/16S	G --> A	4	415	COI	T --> A
4	1202	12s/16S	T --> C	4	422	COI	G --> A
4	1210	12s/16S	T --> C	4	476	COI	C --> T
4	1441	12s/16S	A --> G	4	481	COI	T --> C
4	1443	12s/16S	A --> G	4	493	COI	T --> C
4	1475	12s/16S	C --> T	4	502	COI	G --> T
4	1489	12s/16S	T --> C	4	532	COI	C --> T
4	1490	12s/16S	C --> T	4	541	COI	C --> T
4	1498	12s/16S	T --> C	4	553	COI	T --> C
4	1511	12s/16S	G --> A	4	574	COI	T --> C
4	1534	12s/16S	C --> T	4	586	COI	T --> C
4	1538	12s/16S	A --> C	4	625	COI	T --> C
4	1548	12s/16S	T --> C	4	48	CYTB	A --> C
4	1552	12s/16S	A --> G	4	151	CYTB	T --> C
4	1595	12s/16S	T --> C	4	160	CYTB	C --> T
4	1618	12s/16S	T --> C	4	172	CYTB	T --> C
4	1728	12s/16S	C --> T	4	184	CYTB	A --> G
4	1768	12s/16S	C --> T	4	202	CYTB	T --> C

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso (continua).

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação	Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
4	211	CYTB	C --> T	447	1149	12s/16S	T --> C
4	235	CYTB	C --> T	447	1233	12s/16S	A --> G
4	334	CYTB	A --> G	447	1560	12s/16S	A --> T
4	343	CYTB	T --> G	447	1767	12s/16S	C --> T
4	346	CYTB	C --> T	447	2271	12s/16S	C --> T
4	352	CYTB	G --> A	447	2315	12s/16S	C --> T
4	365	CYTB	A --> T	447	205	COI	T --> C
4	424	CYTB	G --> C	447	277	COI	A --> G
4	442	CYTB	T --> C	447	337	COI	A --> G
4	448	CYTB	T --> C	447	496	COI	T --> C
4	520	CYTB	C --> T	447	517	COI	T --> C
4	547	CYTB	C --> T	447	643	COI	T --> C
4	556	CYTB	A --> G	447	274	CYTB	A --> G
4	574	CYTB	C --> T	447	319	CYTB	T --> C
4	590	CYTB	G --> A	447	376	CYTB	C --> T
4	595	CYTB	C --> T	448	182	12s/16S	C --> T
4	603	CYTB	A --> T	448	435	12s/16S	A --> G
4	623	CYTB	G --> A	448	523	12s/16S	A --> G
4	359	RAG	C --> T	448	738	12s/16S	G --> C
4	600	RAG	G --> T	448	752	12s/16S	A --> C
4	829	RAG	T --> C	448	760	12s/16S	A --> G
446	141	12s/16S	T --> A	448	989	12s/16S	T --> A
446	336	12s/16S	A --> T	448	1048	12s/16S	C --> T
446	687	12s/16S	T --> C	448	1123	12s/16S	C --> T
446	1330	12s/16S	T --> C	448	1332	12s/16S	A --> T
446	1332	12s/16S	T --> C	448	1368	12s/16S	A --> C
446	1373	12s/16S	T --> C	448	1442	12s/16S	C --> T
446	1454	12s/16S	T --> C	448	1473	12s/16S	T --> C
446	1471	12s/16S	C --> A	448	1557	12s/16S	T --> A
446	1663	12s/16S	A --> C	448	1646	12s/16S	T --> A
446	1670	12s/16S	T --> C	448	1687	12s/16S	AC --> T
446	1699	12s/16S	A --> C	448	1839	12s/16S	A --> C
446	247	COI	T --> C	448	1951	12s/16S	T --> C
446	256	COI	C --> T	448	2187	12s/16S	T --> C
446	340	COI	A --> C	448	2188	12s/16S	T --> A
446	445	COI	C --> T	448	2198	12s/16S	T --> C
446	497	COI	T --> C	448	2306	12s/16S	C --> T
446	601	COI	T --> C	448	2322	12s/16S	T --> C
446	42	CYTB	A --> G	448	2330	12s/16S	T --> C
446	49	CYTB	A --> G	448	2466	12s/16S	A --> G
446	196	CYTB	T --> C	448	361	COI	T --> C
446	214	CYTB	A --> G	448	427	COI	C --> T
446	391	CYTB	T --> C	448	433	COI	C --> T
446	475	CYTB	C --> T	448	445	COI	A --> C
446	619	CYTB	A --> G	448	514	COI	T --> C
447	388	12s/16S	C --> T	448	595	COI	T --> C
447	777	12s/16S	C --> A	448	610	COI	T --> A
447	907	12s/16S	C --> T	448	154	CYTB	C --> A
447	942	12s/16S	T --> C	448	269	CYTB	A --> G

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso (continua).

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação	Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
448	277	CYTB	T --> C	450	148	COI	T --> C
448	599	CYTB	T --> A	450	214	COI	A --> T
448	261	RAG	C --> T	450	316	COI	T --> C
449	163	12s/16S	T --> C	450	319	COI	T --> C
449	197	12s/16S	C --> A	450	418	COI	T --> C
449	331	12s/16S	C --> T	450	502	COI	T --> G
449	378	12s/16S	T --> C	450	529	COI	A --> G
449	854	12s/16S	T --> C	450	535	COI	A --> G
449	877	12s/16S	T --> C	450	39	CYTB	A --> G
449	1016	12s/16S	T --> C	450	292	CYTB	A --> T
449	1054	12s/16S	T --> C	450	449	CYTB	C --> T
449	1065	12s/16S	T --> C	450	1105	RAG	C --> T
449	1111	12s/16S	A --> G	451	107	12s/16S	C --> A
449	1454	12s/16S	C --> T	451	336	12s/16S	T --> A
449	1461	12s/16S	T --> C	451	761	12s/16S	T --> C
449	1524	12s/16S	T --> C	451	972	12s/16S	A --> C
449	1548	12s/16S	A --> T	451	1089	12s/16S	A --> T
449	1552	12s/16S	G --> A	451	1122	12s/16S	A --> G
449	1701	12s/16S	T --> C	451	1226	12s/16S	G --> A
449	1752	12s/16S	T --> C	451	1238	12s/16S	C --> T
449	1841	12s/16S	T --> C	451	1268	12s/16S	T --> A
449	2040	12s/16S	G --> A	451	1642	12s/16S	C --> T
449	125	COI	T --> C	451	1644	12s/16S	C --> T
449	196	COI	T --> C	451	1646	12s/16S	C --> T
449	229	COI	G --> A	451	2160	12s/16S	T --> A
449	307	COI	C --> T	451	301	COI	C --> T
449	340	COI	C --> A	451	54	CYTB	A --> T
449	397	COI	A --> G	451	646	CYTB	T --> A
449	466	COI	T --> C	452	137	12s/16S	A --> T
449	175	CYTB	T --> C	452	142	12s/16S	T --> A
449	196	CYTB	C --> T	452	182	12s/16S	T --> C
449	211	CYTB	T --> C	452	311	12s/16S	C --> A
449	295	CYTB	T --> C	452	324	12s/16S	A --> C
449	643	CYTB	A --> C	452	341	12s/16S	A --> G
449	3	POMC	T --> C	452	385	12s/16S	A --> C
449	151	POMC	C --> T	452	437	12s/16S	T --> C
449	503	POMC	A --> C	452	474	12s/16S	A --> G
449	589	POMC	C --> G	452	477	12s/16S	C --> A
449	397	RAG	C --> A	452	615	12s/16S	T --> C
450	324	12s/16S	C --> T	452	655	12s/16S	A --> C
450	697	12s/16S	T --> C	452	719	12s/16S	A --> T
450	729	12s/16S	A --> G	452	748	12s/16S	T --> C
450	777	12s/16S	T --> C	452	759	12s/16S	A --> G
450	1032	12s/16S	C --> T	452	770	12s/16S	G --> A
450	1066	12s/16S	T --> C	452	784	12s/16S	C --> T
450	1643	12s/16S	C --> T	452	886	12s/16S	C --> T
450	1799	12s/16S	T --> C	452	887	12s/16S	T --> C
450	2237	12s/16S	A --> G	452	919	12s/16S	C --> A
450	142	COI	A --> G	452	1000	12s/16S	T --> C

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso (continua).

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação	Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
452	1016	12s/16S	A --> T	452	277	CYTB	A --> T
452	1021	12s/16S	A --> C	452	433	CYTB	T --> A
452	1043	12s/16S	C --> T	452	436	CYTB	A --> T
452	1069	12s/16S	A --> C	452	451	CYTB	T --> A
452	1076	12s/16S	A --> C	452	454	CYTB	A --> C
452	1221	12s/16S	A --> T	452	538	CYTB	A --> C
452	1288	12s/16S	A --> C	452	649	CYTB	C --> T
452	1310	12s/16S	G --> A	452	650	CYTB	C --> A
452	1321	12s/16S	C --> T	452	662	CYTB	G --> T
452	1375	12s/16S	C --> T	452	91	POMC	C --> T
452	1382	12s/16S	G --> A	452	94	POMC	G --> A
452	1401	12s/16S	C --> T	452	118	POMC	T --> G
452	1432	12s/16S	T --> C	452	439	POMC	A --> C
452	1442	12s/16S	A --> C	452	478	POMC	C --> T
452	1443	12s/16S	C --> A	452	545	POMC	G --> A
452	1451	12s/16S	T --> G	452	290	RAG	T --> A
452	1460	12s/16S	T --> A	452	338	RAG	A --> G
452	1472	12s/16S	A --> T	452	377	RAG	A --> C
452	1481	12s/16S	T --> A	452	407	RAG	T --> C
452	1519	12s/16S	C --> A	452	530	RAG	C --> A
452	1548	12s/16S	C --> A	452	544	RAG	G --> T
452	1552	12s/16S	T --> G	452	557	RAG	T --> C
452	1554	12s/16S	T --> A	452	653	RAG	G --> T
452	1644	12s/16S	A --> C	452	659	RAG	T --> C
452	1667	12s/16S	A --> C	452	756	RAG	G --> A
452	1727	12s/16S	A --> CT	452	847	RAG	C --> A
452	1729	12s/16S	G --> A	452	867	RAG	G --> A
452	1730	12s/16S	A --> C	452	911	RAG	T --> A
452	1763	12s/16S	A --> T	452	912	RAG	G --> T
452	1816	12s/16S	T --> A	452	1128	RAG	A --> C
452	1838	12s/16S	A --> C	452	1182	RAG	G --> A
452	1840	12s/16S	T --> C	452	1242	RAG	G --> A
452	1843	12s/16S	T --> A	452	1251	RAG	C --> T
452	2067	12s/16S	G --> A	452	1276	RAG	C --> A
452	2169	12s/16S	A --> T	452	1277	RAG	A --> G
452	2175	12s/16S	A --> C	452	1290	RAG	A --> G
452	2183	12s/16S	T --> C	452	1374	RAG	G --> A
452	2270	12s/16S	G --> A	452	1389	RAG	T --> A
452	247	COI	T --> C	468	385	COI	G --> A
452	289	COI	C --> A	468	502	COI	G --> A
452	335	COI	C --> T	468	505	COI	C --> T
452	424	COI	A --> C	468	643	COI	T --> C
452	448	COI	A --> T	468	30	CYTB	G --> A
452	502	COI	A --> T	468	42	CYTB	A --> G
452	565	COI	C --> A	468	325	CYTB	C --> T
452	598	COI	A --> T	468	328	CYTB	A --> G
452	39	CYTB	G --> A	468	394	CYTB	C --> T
452	212	CYTB	C --> A	468	424	CYTB	G --> A
452	230	CYTB	A --> C	468	472	CYTB	C --> T

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso (continua).

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação	Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
468	616	CYTB	C --> T	477	307	COI	T --> A
468	644	CYTB	G --> A	477	439	COI	G --> C
468	649	CYTB	T --> C	477	548	COI	A --> G
469	2060	12s/16S	C --> T	477	646	COI	A --> G
469	2073	12s/16S	A --> G	477	280	CYTB	C --> T
469	2184	12s/16S	C --> T	477	292	CYTB	T --> C
469	2194	12s/16S	C --> T	477	415	CYTB	A --> G
469	2202	12s/16S	C --> T	477	421	CYTB	G --> A
469	2211	12s/16S	G --> A	478	2229	12s/16S	G --> A
469	2227	12s/16S	C --> A	478	238	COI	C --> T
469	2228	12s/16S	T --> C	478	280	COI	A --> G
469	2244	12s/16S	T --> A	478	335	COI	T --> C
469	2270	12s/16S	A --> G	478	352	COI	A --> T
469	2271	12s/16S	C --> T	478	424	COI	T --> A
469	2337	12s/16S	C --> T	478	230	CYTB	C --> T
469	2346	12s/16S	G --> A	478	386	RAG	G --> A
469	2350	12s/16S	C --> T	479	740	RAG	C --> G
469	2372	12s/16S	T --> C	480	241	COI	T --> C
469	202	COI	C --> T	480	280	COI	A --> G
469	238	COI	C --> T	480	388	COI	A --> G
469	269	COI	G --> A	480	391	COI	A --> G
469	400	COI	G --> A	480	442	COI	A --> G
469	538	COI	A --> G	480	493	COI	T --> C
469	544	COI	C --> T	480	527	COI	T --> C
469	607	COI	C --> T	480	655	COI	T --> C
469	637	COI	C --> T	480	187	CYTB	A --> G
469	12	CYTB	C --> T	480	274	CYTB	G --> A
469	45	CYTB	C --> T	480	293	CYTB	G --> A
469	48	CYTB	A --> C	480	301	CYTB	C --> T
469	124	CYTB	T --> C	480	478	CYTB	T --> C
469	151	CYTB	T --> C	480	514	CYTB	C --> T
469	220	CYTB	C --> T	480	550	CYTB	A --> G
469	232	CYTB	A --> G	480	637	CYTB	C --> T
469	238	CYTB	T --> C	480	647	CYTB	G --> A
469	259	CYTB	A --> G	480	661	CYTB	T --> C
469	346	CYTB	C --> T	481	2160	12s/16S	A --> T
469	448	CYTB	T --> C	481	2168	12s/16S	A --> G
469	501	CYTB	T --> C	481	2185	12s/16S	C --> A
469	505	CYTB	T --> C	481	2197	12s/16S	C --> T
469	523	CYTB	C --> T	481	2199	12s/16S	T --> C
469	526	CYTB	C --> T	481	2277	12s/16S	A --> C
469	625	CYTB	C --> T	481	121	COI	A --> G
469	637	CYTB	C --> T	481	145	COI	G --> A
469	164	RAG	C --> T	481	172	COI	T --> C
469	224	RAG	G --> A	481	295	COI	T --> C
469	485	RAG	G --> A	481	298	COI	A --> G
469	568	RAG	T --> C	481	376	COI	A --> T
477	2433	12s/16S	A --> G	481	562	COI	A --> G
477	247	COI	C --> T	481	598	COI	T --> C

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso (continua).

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação	Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
481	640	COI	T --> C	504	436	CYTB	T --> C
481	9	CYTB	A --> T	504	472	CYTB	C --> T
481	18	CYTB	T --> C	504	506	CYTB	A --> G
481	66	CYTB	A --> G	504	508	CYTB	A --> G
481	85	CYTB	A --> G	504	529	CYTB	C --> T
481	130	CYTB	T --> C	504	591	CYTB	C --> T
481	136	CYTB	C --> T	505	247	COI	T --> C
481	142	CYTB	C --> T	505	268	COI	T --> A
481	163	CYTB	T --> C	505	337	COI	A --> G
481	232	CYTB	A --> G	505	439	COI	A --> G
481	247	CYTB	C --> T	505	445	COI	C --> T
481	256	CYTB	A --> G	505	601	COI	T --> A
481	271	CYTB	T --> C	505	613	COI	T --> C
481	292	CYTB	T --> A	505	30	CYTB	G --> T
481	370	CYTB	C --> T	505	154	CYTB	A --> G
481	571	CYTB	A --> G	505	187	CYTB	A --> C
481	551	RAG	A --> G	505	269	CYTB	G --> A
482	587	RAG	A --> T	505	298	CYTB	A --> G
498	2185	12s/16S	C --> T	505	310	CYTB	T --> C
498	118	COI	C --> T	505	313	CYTB	C --> T
498	127	COI	A --> T	505	346	CYTB	C --> T
498	163	COI	C --> T	505	406	CYTB	A --> G
498	319	CYTB	T --> C	505	460	CYTB	C --> T
498	331	CYTB	A --> G	505	478	CYTB	T --> C
498	337	CYTB	A --> G	505	481	CYTB	C --> T
498	397	CYTB	C --> T	505	502	CYTB	C --> T
498	574	CYTB	C --> T	505	562	CYTB	C --> T
504	301	COI	T --> C	505	567	RAG	G --> C
504	307	COI	T --> C	508	556	CYTB	A --> G
504	331	COI	A --> G	512	286	COI	A --> G
504	379	COI	A --> G	512	274	CYTB	A --> G
504	382	COI	A --> T	512	638	CYTB	G --> A
504	421	COI	C --> T	519	358	COI	T --> C
504	463	COI	C --> T	519	475	COI	T --> C
504	466	COI	C --> T	519	499	COI	A --> G
504	490	COI	C --> T	519	277	CYTB	T --> C
504	553	COI	T --> C	519	340	CYTB	A --> G
504	580	COI	A --> G	519	361	CYTB	T --> C
504	610	COI	A --> G	519	388	CYTB	A --> C
504	48	CYTB	A --> C	519	475	CYTB	T --> C
504	130	CYTB	T --> C	519	487	CYTB	C --> T
504	151	CYTB	T --> C	519	589	CYTB	C --> T
504	237	CYTB	A --> T	529	208	COI	C --> T
504	253	CYTB	T --> C	529	232	COI	C --> T
504	256	CYTB	A --> G	529	244	COI	A --> G
504	259	CYTB	A --> G	529	304	COI	C --> T
504	286	CYTB	C --> T	529	337	COI	G --> A
504	316	CYTB	A --> T	529	433	COI	T --> C
504	331	CYTB	A --> G	529	538	COI	A --> G

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso (continua).

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação	Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
529	577	COI	G --> A	683	316	CYTB	A --> G
529	608	COI	C --> T	683	518	POMC	T --> A
529	154	CYTB	A --> G	689	268	COI	A --> G
529	199	CYTB	C --> T	689	412	COI	A --> G
529	211	CYTB	C --> T	689	48	CYTB	A --> G
529	217	CYTB	T --> C	689	352	CYTB	G --> A
529	316	CYTB	A --> G	689	565	CYTB	A --> G
529	319	CYTB	C --> T	711	413	12s/16S	A --> T
529	331	CYTB	A --> G	711	722	12s/16S	G --> A
529	388	CYTB	A --> C	711	763	12s/16S	T --> A
529	430	CYTB	C --> T	711	1106	12s/16S	C --> T
529	502	CYTB	C --> T	711	1158	12s/16S	T --> A
529	505	CYTB	T --> C	711	1164	12s/16S	A --> T
529	601	CYTB	A --> T	711	1462	12s/16S	A --> T
529	589	RAG	G --> C	711	1566	12s/16S	C --> T
665	626	COI	T --> C	711	1641	12s/16S	A --> T
665	274	CYTB	A --> G	711	1646	12s/16S	T --> A
665	331	CYTB	A --> G	711	1733	12s/16S	C --> T
665	506	CYTB	A --> G	711	1735	12s/16S	T --> C
665	659	CYTB	T --> C	711	1736	12s/16S	C --> T
666	275	COI	T --> C	711	1737	12s/16S	T --> C
666	376	COI	T --> C	711	1794	12s/16S	A --> C
666	601	COI	T --> A	711	1814	12s/16S	T --> A
666	640	COI	T --> C	711	1843	12s/16S	T --> A
666	49	CYTB	A --> G	711	2168	12s/16S	A --> T
666	57	CYTB	C --> T	711	2183	12s/16S	T --> A
666	220	CYTB	T --> C	711	2186	12s/16S	C --> A
666	307	CYTB	T --> C	711	2301	12s/16S	T --> C
666	316	CYTB	A --> C	711	2306	12s/16S	T --> A
666	337	CYTB	A --> G	711	142	COI	A --> G
666	374	CYTB	C --> T	711	187	COI	T --> C
666	394	CYTB	T --> C	711	460	COI	A --> T
666	401	CYTB	G --> A	711	565	COI	C --> A
666	442	CYTB	T --> C	711	583	COI	A --> C
666	460	CYTB	C --> T	711	598	COI	A --> T
666	478	CYTB	T --> C	711	622	COI	A --> T
666	499	CYTB	T --> C	711	634	COI	A --> C
666	520	CYTB	C --> T	711	69	CYTB	C --> T
666	589	CYTB	C --> T	711	100	CYTB	C --> T
666	592	CYTB	C --> T	711	124	CYTB	T --> A
666	644	CYTB	G --> A	711	241	CYTB	C --> G
666	217	POMC	A --> T	711	370	CYTB	C --> T
666	226	POMC	C --> A	711	400	CYTB	A --> T
666	257	POMC	A --> T	711	556	CYTB	A --> C
666	409	POMC	T --> C	711	640	CYTB	C --> A
666	538	POMC	T --> C	711	3	POMC	T --> C
666	553	POMC	G --> A	711	4	POMC	A --> C
666	571	POMC	T --> C	711	128	POMC	A --> C
683	269	COI	G --> A	711	136	POMC	C --> T

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso (continua).

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação	Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
711	181	POMC	C --> T	712	1767	12s/16S	C --> T
711	196	POMC	C --> T	712	1778	12s/16S	T --> C
711	208	POMC	T --> C	712	1837	12s/16S	T --> A
711	406	POMC	T --> C	712	1868	12s/16S	A --> T
711	442	POMC	G --> A	712	1889	12s/16S	A --> G
711	449	POMC	A --> C	712	1908	12s/16S	T --> C
711	493	POMC	T --> C	712	1947	12s/16S	A --> T
711	547	POMC	T --> C	712	1979	12s/16S	C --> T
711	365	RAG	C --> T	712	1980	12s/16S	T --> A
711	371	RAG	A --> G	712	1981	12s/16S	G --> A
711	437	RAG	A --> T	712	2060	12s/16S	C --> T
711	593	RAG	C --> T	712	2082	12s/16S	T --> C
711	639	RAG	C --> T	712	2201	12s/16S	A --> C
712	31	12s/16S	A --> G	712	2222	12s/16S	T --> A
712	182	12s/16S	T --> C	712	2227	12s/16S	C --> T
712	298	12s/16S	T --> A	712	2312	12s/16S	G --> A
712	335	12s/16S	T --> A	712	2334	12s/16S	C --> T
712	436	12s/16S	C --> T	712	2358	12s/16S	C --> T
712	442	12s/16S	A --> C	712	454	COI	C --> T
712	475	12s/16S	G --> A	712	511	COI	C --> T
712	667	12s/16S	T --> A	712	523	COI	A --> T
712	833	12s/16S	T --> C	712	532	COI	C --> T
712	906	12s/16S	C --> T	712	568	COI	T --> A
712	978	12s/16S	T --> C	712	7	CYTB	C --> T
712	1031	12s/16S	C --> A	712	15	CYTB	A --> C
712	1039	12s/16S	A --> G	712	21	CYTB	T --> C
712	1072	12s/16S	C --> T	712	30	CYTB	G --> A
712	1078	12s/16S	T --> A	712	57	CYTB	C --> T
712	1091	12s/16S	A --> T	712	149	CYTB	A --> T
712	1092	12s/16S	A --> T	712	292	CYTB	A --> T
712	1093	12s/16S	C --> T	712	374	CYTB	C --> T
712	1097	12s/16S	T --> C	712	400	CYTB	A --> C
712	1158	12s/16S	T --> A	712	404	CYTB	C --> T
712	1232	12s/16S	A --> T	712	439	CYTB	C --> T
712	1311	12s/16S	C --> T	712	629	CYTB	C --> T
712	1323	12s/16S	A --> G	712	631	CYTB	C --> A
712	1373	12s/16S	T --> C	712	634	CYTB	A --> T
712	1400	12s/16S	G --> A	712	91	POMC	C --> T
712	1444	12s/16S	C --> T	712	169	POMC	C --> A
712	1476	12s/16S	C --> T	712	260	POMC	A --> G
712	1486	12s/16S	G --> A	712	268	POMC	C --> A
712	1550	12s/16S	A --> T	712	442	POMC	G --> A
712	1614	12s/16S	A --> T	712	463	POMC	T --> C
712	1626	12s/16S	A --> C	712	464	POMC	G --> A
712	1630	12s/16S	T --> C	712	466	POMC	A --> G
712	1662	12s/16S	A --> T	712	508	POMC	C --> A
712	1677	12s/16S	A --> C	712	528	POMC	G --> A
712	1690	12s/16S	T --> A	712	546	POMC	G --> A
712	1729	12s/16S	G --> A	712	549	POMC	G --> A

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso (continua).

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação	Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
712	553	POMC	G --> A	714	1841	12s/16S	T --> C
712	6	RAG	T --> C	714	1950	12s/16S	A --> C
712	188	RAG	A --> G	714	2066	12s/16S	G --> A
712	212	RAG	T --> G	714	2169	12s/16S	A --> G
712	236	RAG	C --> T	714	2187	12s/16S	T --> A
712	300	RAG	C --> A	714	2221	12s/16S	T --> A
712	338	RAG	A --> G	714	2244	12s/16S	T --> A
712	368	RAG	G --> A	714	2312	12s/16S	G --> A
712	428	RAG	G --> A	714	247	COI	T --> C
712	494	RAG	C --> G	714	346	COI	C --> A
712	537	RAG	A --> G	714	359	COI	C --> T
712	545	RAG	A --> T	714	391	COI	A --> G
712	566	RAG	G --> A	714	487	COI	C --> T
712	602	RAG	G --> C	714	523	COI	A --> T
712	605	RAG	T --> C	714	610	COI	T --> C
712	644	RAG	T --> C	714	36	CYTB	A --> G
712	695	RAG	G --> A	714	154	CYTB	C --> A
712	699	RAG	C --> A	714	246	CYTB	A --> T
712	826	RAG	T --> C	714	292	CYTB	A --> T
712	912	RAG	G --> A	714	313	CYTB	T --> A
712	1114	RAG	A --> C	714	388	CYTB	A --> C
712	1118	RAG	G --> C	714	403	CYTB	A --> C
712	1245	RAG	C --> T	714	451	CYTB	T --> C
712	1251	RAG	C --> T	714	202	POMC	T --> C
712	1278	RAG	A --> G	714	278	POMC	A --> G
712	1416	RAG	C --> T	714	415	POMC	G --> A
714	298	12s/16S	T --> A	714	458	POMC	T --> C
714	327	12s/16S	C --> A	714	263	RAG	C --> T
714	335	12s/16S	T --> G	714	321	RAG	C --> T
714	669	12s/16S	T --> A	714	359	RAG	C --> T
714	797	12s/16S	C --> A	714	372	RAG	T --> A
714	819	12s/16S	C --> A	714	374	RAG	C --> T
714	884	12s/16S	A --> G	714	375	RAG	A --> G
714	977	12s/16S	A --> G	714	464	RAG	C --> T
714	992	12s/16S	C --> T	714	517	RAG	C --> A
714	1018	12s/16S	A --> G	714	551	RAG	A --> G
714	1040	12s/16S	T --> C	714	602	RAG	G --> C
714	1066	12s/16S	T --> C	714	656	RAG	C --> A
714	1076	12s/16S	A --> T	714	677	RAG	A --> G
714	1164	12s/16S	A --> C	714	695	RAG	G --> C
714	1165	12s/16S	A --> T	714	753	RAG	A --> T
714	1271	12s/16S	T --> C	714	838	RAG	T --> C
714	1311	12s/16S	C --> T	714	931	RAG	A --> C
714	1400	12s/16S	G --> A	714	972	RAG	T --> C
714	1538	12s/16S	A --> G	714	1142	RAG	C --> T
714	1550	12s/16S	A --> T	714	1145	RAG	T --> C
714	1626	12s/16S	G --> T	714	1167	RAG	G --> A
714	1663	12s/16S	A --> C	714	1212	RAG	T --> C
714	1688	12s/16S	AC --> T	714	1245	RAG	C --> T

Apêndice 3b. Sinapomorfias (transformações) moleculares de cada nó da árvore consenso.

Nó #	Posição	Fragmento	Transformação
714	1246	RAG	A --> G
714	1320	RAG	A --> G
714	1389	RAG	T --> C
721	107	12s/16S	C --> T
721	344	12s/16S	T --> C
721	497	12s/16S	T --> C
721	502	12s/16S	AT --> C
721	665	12s/16S	T --> C
721	773	12s/16S	T --> C
721	787	12s/16S	A --> G
721	806	12s/16S	T --> C
721	1624	12s/16S	A --> T
721	1647	12s/16S	T --> C
721	1649	12s/16S	T --> A
721	1906	12s/16S	C --> T
721	1947	12s/16S	A --> T
721	2196	12s/16S	A --> C
721	316	COI	T --> C
721	355	COI	T --> A
721	439	COI	T --> C
721	442	COI	A --> C
721	586	COI	T --> A
721	637	COI	A --> G
721	36	CYTB	G --> A
721	163	CYTB	A --> G
721	349	CYTB	A --> G
721	364	CYTB	T --> C
721	449	CYTB	C --> T
721	583	CYTB	C --> G
721	628	CYTB	T --> C
721	661	CYTB	T --> C
721	202	POMC	C --> T

APÊNDICE 4

CAPÍTULO 2

Evolução fenotípica no gênero *Adenomera* Steindachner, 1867 com
comentários acerca da subfamília Leptodactylinae

MATERIAL EXAMINADO

Apêndice 4. Material Examinado.

Adenomera ajuaruna: BB 283, 291, 459, 460, CFBH 28189, 28191, 28193, 16548, 16793, 19349, 25850, 26839, 9123, 9128, CV 200, UFMG 2874, 9473, 9474.

Adenomera andreae: CFBH 1902, 1903, 16661, 16672, 16673, 16674, 16675, 20755, 20756, 20758, 30650, 37566, 37567.

Adenomera araucaria: UFMG 10189, 10190, 20266, 20267.

Adenomera bokermanni: CFBH 23216, 23217, 23219, UFMG 10269, 10270, 10289, 10290, 10291.

Adenomera diptyx: CFBH 5055, 5056, 5057, 5058, 5059, 5060, 5061, 5062, 5063, 8836.

Adenomera engelsi: CFBH 18197, 20266, 20267, 22775, 22775, 22775, MNRJ 72224, 72537, 72544, UFMG, 10288, 6966, 6967, 6969, 6970, 7001, 7002, 7017, 7065, 7106, 7107.

Adenomera hylaedactyla: CFBH 4935, 4936, 28243, 28338, 28368, 28469, 28527.

Adenomera marmorata: BB s/n, 272, 276, 282, 292, 296, 311, 315, 319, 321, CCT, 25, 31, 35, CFBH 6395, 6396, 9212, 11355, 11512, 11532, 11533, 11534, 11535, 11536, 11542, 12236, 12305, 12864, 12884, 12886, 15402, 15409, 15416, 15434, 15443, 15494, 15497, 15500, 15542, 15953, 17137, 17138, 17139, 17140, 17141, 17142, 17143, 17451, 17477, 19968, 19969, 19975, 20218, 20219, 20222, 23923, 23957, 27844, 27845, 27846, 27846, 27847, 27847, 27847, 27848, 27848, 27848, 27849, 27849, 27849, 27850, 27850, 27850, 32811, 32813, 32814, 32815, 32816, 32818, 32819, 32820, 34389, 34391, 34401, 34402, 34402, 34403, 34404, 34404, 34406, 34409, 34411, 34411, 35983, 36130, 36131, 36132, MNRJ 47474, 53755, 73063, 74640, PPGT 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 496, 497, UFMG 2708, 2709, 9353, 9354, 9470, 9471, 10296, 10297, 10298, 10300, 10302, 10304, 13284, 13285, 13286, 13287, 13288, 13289, 13290, 13291.

Adenomera martinezi: CFBH 10262, 10308, 27059.

Adenomera nana: CFBH 18170, 27478, 27479, 27480, 27481, 27482, UFMG 8969, 10188, 10279, 10280.

Adenomera saci: CFBH 10262, 10308, 27059, 28261, 28897.

Adenomera sp. N: CFBH 21301, 21302, 23182, 23183, 34435, 34436.

Adenomera sp. n. "canto curto": Canedo 32, 33, 40, CFBH 21318, 21318, 22327, 22332, 22333, 22354, 22468, 22469, 23221, 23221, 26872, 26872, 27148, 32821, 35917, 13478, 13479, 15841, 17005, 17028, 17053, 17116, 17796, 17957, 17958, 17959, 19140, 19604, CV 199, 202, PPGT 462, 463, 464, 472, 474, 475, 476, 477, 479, 480.

Adenomera sp. n. "catarinense": UFMG 7111, 7066, 7080.

Adenomera sp. n. "sambaqui": CFBH 15837, 15838, 15839, 17011, 17047, 17049, 17746, 17765, 17870, 17888, 17888, 17903, 17904, 17904, 17943, 18893, 18895, 18972, 19002, 19075, 19076, 19085, 19126, 19127, 19128, 19139, 19595, 19595, 19597, 19977, 22324, 22326, 22347, 22348, 22363, 22364, 22466, 22467, 23216, 32327, 32861, 35777, 35778, 35779, 35828, 35851.

Adenomera thomei: BB 161, 162, CFBH 6, 11531, 11531, 18057, 18058, 18059, 18060, 18061, 18061, 18062, 18063, 18064, 18065, 18066, 18066, 18067, 18068, 18069, 18070, 18070, 19469, 22295, 22295, 29532, 29532, 32069, 32069, 32070, 32070, 32071, 32071, 32072, 32072, 32073, 32073, 32074, 32074, 32075, 32075, 32076, 32076, 32101, 32101, 32102, 32102, 34413, 34413, 34414, 34414, 34958, 35748, 35748, 35874, 35874, 35875, 35875, 37836, 37837, 37838, 37839, 37840, 37841, 38085, MNRJ 47473, UFMG 3745, 9354, 9355, 9422, 9468, 10305, 10306.,

Edalorhina perezi: CFBH 19814, 20380, 35204.

Engystomops petersi: CFBH 906, 907, 4922, 5119, 5120, 5121, 5122.

Eupemphix nattereri: CFBH 31415, 31899, 31900, 31902, 31903, 31906, 36048, 36049, 36362, 36364.

Hydrolaetare dantasi: CFBH 3814, 3815.

Hydrolaetare schmidtii: CFBH 20320.

Lepidobatrachus asper: MNRJ 39936, MZUSP 94595, 94811.

Lepidobatrachus llanensis: MZUSP 74336, 74347.

Leptodactylus albilabris: MNRJ 80255.

Leptodactylus bufonius: CFBH 30491, 30492, 30493, 30494, 30498.

Leptodactylus caatingae: CFBH 21003, 22072, 22073, 22074, 27674, 27678.

Leptodactylus camaquara: CFBH 800, 6520.

Leptodactylus chaquensis: CFBH 3302, 18377, 29707.

Leptodactylus cunicularius: CFBH 182, 782, 6238, 6239, 6240, 10217, 10218, 24370, 30897.

Leptodactylus cupreus: CFBH 23632, 23650, 26359, 26360, 26430, 32113, 32114, MNRJ 80224.

Leptodactylus discodactylus: MZUSP 9810, 24814, 24816, 24824, 51574, 51575, 54189, 54190, 54191, 83283.

Leptodactylus elenae: CFBH 222, 4327, 5296, 8835, 9490.

Leptodactylus flavopictus: CFBH 1733, 2321, 4700, 4710, 4711, 4712, 4714.,

Leptodactylus furnarius: CFBH 783, 6508, 7273, 16217, 20055, 28774, 30867.

Leptodactylus fuscus: CFBH 3884, 3885, 6438, 16982, 26431, 26442, 27830, 28412.

Leptodactylus gracilis: CFBH 3788, 3791, 3792, 3793, 10326, 23730, 23731, 30342, 30346.

Leptodactylus joyli: CFBH 6514, 7277, 11546, 22289, 24246, 24454.

Leptodactylus knudseni: CFBH 500, 532, 20693, 20744, 20745.

Leptodactylus labirinthycus: CFBH 28, 3655, 3767, 4585, 4923, 11499, 20988, 28009, 28911.

Leptodactylus latinasus: CFBH 153, 29991.

Leptodactylus latrans: CFBH 12044, 16992, 25615, 27776, 32117, 32135, 32137.

Leptodactylus longirostris: CFBH 4224.

Leptodactylus macrosternum: CFBH 30078, 30190, 30194, 31117, 31118, 31293.

Leptodactylus marambaiae: MNRJ 19950, 40743, 40744, 40745, 40746.

Leptodactylus melanonotus: CFBH 28939.

Leptodactylus mystaceus: CFBH 16103, 17242, 18672, 26124, 31957, 31959.

Leptodactylus mystacinus: CFBH 999, 5540, 9535, 9790, 9795, 18386.

Leptodactylus natalensis: CFBH 11327, 16254, 23405, 26566, 27073, 27793.

Leptodactylus notoaktites: CFBH 1736, 6342, 11282, 25611, 26815, 26816, 26817.

Leptodactylus paraensis: CFBH 1323.

Leptodactylus pentadactylus: CFBH 20729, 21846.

Leptodactylus petersi: CFBH 14424, 19194, 20989, 20990, 20992, 20993, 21005, 25939.

Leptodactylus plaumanni: CFBH 3858, 9380, 9952, 23852, 30364.

Leptodactylus podicipinus: CFBH 13306, 17172, 19987, 23374, 25941, 28373, 29214, 31917.

Leptodactylus pustulatus: CFBH 19901, 20972, 25977, 25980, 25980, 26029, 28391, 28450.

Leptodactylus rhodomystax: CFBH 1886, 5115, 5116, 5576, 30651.

Leptodactylus rhodonotus: CFBH 4913.

Leptodactylus sertanejo: CFBH 5792, 20558, 28930, 28946.

Leptodactylus spixi: CFBH 4110, 25154, 25499, 26301, 26362, 26363, 40556.

Leptodactylus syphax: CFBH 28410, MNRJ 20201, 20189, 20187, 55333.

Leptodactylus troglodytes: CFBH 16446, 19515, 20552, 23767, 27651, 27737, 27738, 27740.

Leptodactylus vastus: CFBH 18527, 18528, 18531, 19895, 20999.

Leptodactylus viridis: CFBH 29505, 29506, 29513, MNRJ 29605, 46862, 60072.

Lithodites lineatus: CFBH 514, 528, 529, 20087, 20651.

Paratelmatoobius cardosoi: CFBH 862, 863, 864, 865, 2896, 3262, 3268, 3269, 12006, 12007, 28975.

Paratelmatobius gaigeae: CFBH 7156, 23892, 23893, 27851, 36069, 36070, 36079, 36936.

Paratelmatobius lutzi: CFBH 866.

Paratelmatobius poecilogaster: CFBH 3253, 3254, 6266, 12004, 12005, 12198, 28959, 28960, 28983.

Physalaemus atlanticus: CFBH 1504, 2108, 3208, 3211, 3215, 3216, 3219, 3221.

Physalaemus cuvieri: CFBH 3738, 16170, 23121, 23122, 28909.

Physalaemus gracilis: CFBH 1458, 12034, 14059, 23732, 23733, 23734.

Pleurodema alium: CFBH 10201.

Pleurodema diplorister: CFBH 422, 425, 14026, 20543, 21327, 23770, 23773, 24331.

Pseudopaludicola falcipes: CFBH 26347, 26348, 26349, 26350.

Pseudopaludicola mystacalis: CFBH 115, 149, 150, 647, 3476, 3550, 7286.

Rupirana cardosoi: CFBH 6665, 6666, 6667, 6668, 6669, MNRJ 30334, 79430, 79431.

Scythrophrys sawayae: CFBH 6068, 6069, 6070, 9369, 9370, 9371, 36428, MNRJ 75150, 75151, 75152, 75153, 74491.

Vitreorana uranoscopa: CFBH 857, 5913, 11076, 21131, 22527, 29023.