UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Caracterização morfológica e acústica de populações atribuídas a *Leptodactylus cunicularius* Sazima & Bokermann, 1978 (Anura, Leptodactylidae): implicações taxonômicas

Thiago Ribeiro de Carvalho Tavares

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP, como
parte das exigências para obtenção do título de
Mestre em Ciências - Área, Biologia Comparada

RIBEIRÃO PRETO-SP

2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Caracterização morfológica e acústica de populações atribuídas a *Leptodactylus cunicularius* Sazima & Bokermann, 1978 (Anura, Leptodactylidae): implicações taxonômicas

Thiago Ribeiro de Carvalho Tavares

Orientador: Dr. Ariovaldo Antonio Giaretta

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP, como
parte das exigências para obtenção do título de
Mestre em Ciências - Área, Biologia Comparada,
Versão corrigida

RIBEIRÃO PRETO-SP

2012

Não autorizo a reprodução e divulgação deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, uma vez que os dados aqui contidos são inéditos.

Ficha Catalográfica

Carvalho, Thiago Ribeiro de

Caracterização morfológica e acústica de populações atribuídas a *L. cunicularius* Sazima & Bokermann, 1978 (Anura, Leptodactylidae): implicações taxonômicas. Ribeirão Preto, 2012.

80 p. : il. ; 30 cm

Dissertação apresentada ao Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Biologia Comparada.

Orientador: Giaretta, Ariovaldo Antonio.

1. Anura. 2. Bioacústica. 3. Grupo de *Leptodactylus fuscus*. 4. *Leptodactylus cunicularius*. 5. Taxonomia.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Thiago Ribeiro de Carvalho Tavares

Caracterização morfológica e acústica de populações atribuídas a *Leptodactylus cunicularius* Sazima & Bokermann, 1978 (Anura, Leptodactylidae): implicações taxonômicas.

Dissertação apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto-USP, como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em Ciências -
Área, Biologia Comparada

Aprovado em ____/____/____

Dr(a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dr(a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dr(a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e amigo, Dr. Ariovaldo A. Giaretta, que me inspirou como biólogo durante os seis anos de convivência, e grande contribuição à minha formação profissional.

À Dra. Kátia G. Facure, que, além de amiga e grande colaboradora e influenciadora da minha formação profissional, nunca deixou de lado a diligência e paciência em qualquer momento que necessitei de seu auxílio.

Aos colegas de trabalho, Dr. Wagner R. da Silva, MSc. Leandro Magrini, MSc. Lucas B. Martins, e Bernardo F. V. Teixeira, pela amizade, colaboração e tempo despendido durante os períodos de coleta de dados em campo e sugestões ao longo desse processo.

Aos meus familiares, em especial meus pais e irmão, à Letícia, e amigos, pela compreensão e apoio incondicionais, mesmo nos inúmeros momentos de ausência nos últimos anos.

Aos professores do programa de pós-graduação em Biologia Comparada, os Drs. Max Langer, Flávio A. Bockmann e Tiana Kohlsdorf, pelas sugestões e comentários valiosos nas versões preliminares deste trabalho.

Aos Drs. Paulo C. A. Garcia, Luís F. Toledo, Célio F. B. Haddad, Renato N. Feio, Luciana B. Nascimento, MSc. Felipe S. F. Leite, MSc. Tiago L. Pezzuti, pela colaboração em disponibilizar espécimes e/ou arquivos sonoros.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao programa de pós-graduação em Biologia Comparada pelo auxílio financeiro durante a execução do projeto de pesquisa.

RESUMO

Carvalho, T. R. (2012). Caracterização morfológica e acústica de populações atribuídas a *Leptodactylus cunicularius* Sazima & Bokermann, 1978 (Anura, Leptodactylidae): implicações taxonômicas. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo.

O canto de anúncio é o principal sinal emitido pelos machos durante a estação reprodutiva e geralmente apresenta duas funções básicas: a atração de fêmeas coespecíficas receptivas sexualmente e o anúncio da posição de um macho para outros machos coespecíficos / heteroespecíficos, ajudando a manter o espaçamento entre os indivíduos vocalizando. A importância do canto de anúncio em anuros como mecanismo primário de isolamento reprodutivo foi extensivamente documentado na literatura e, em decorrência disso, os cantos tem se mostrado altamente valiosos na determinação da identidade das espécies, com aplicação potencial em abordagens macroevolutivas e zoogeográficas. O gênero *Leptodactylus* atualmente abriga 89 espécies, distribuídas do sul da América do Norte e ao longo de toda a extensão neotropical, do México e Antilhas até a Argentina e Uruguai, cujas espécies são atualmente classificadas em cinco grupos fenéticos. O grupo de *L. fuscus* é formado por 27 espécies que se distribuem desde o sul do México até o sul do Uruguai e norte da Argentina. *Leptodactylus cunicularius* foi descrito da Serra do Cipó, área serrana pertencente à porção meridional do complexo da Serra do Espinhaço, e posteriormente, citado de outras três regiões serranas do estado de Minas Gerais. O presente estudo tem como objetivo específico acessar dados bioacústicos e morfológicos/morfométricos de populações previamente atribuídas a *Leptodactylus cunicularius*, visando a

caracterização de populações e o reconhecimento de espécies potencialmente novas. Para isso, analisamos espécimes adultos e cantos de anúncio de oito populações, incluindo a população topotípica, sendo que algumas populações foram previamente atribuídas a *L. cunicularius*, e outras populações eram desconhecidas até o presente momento. Cinco populações foram reconhecidas como distintas de *L. cunicularius* através de dados morfológicos/morfométricos e/ou bioacústicos. As outras duas populações ainda estão sob análise. Regiões serranas podem representar áreas de endemismo para anfíbios anuros, ao passo que em algumas delas, é possível detectar congruência biogeográfica para outros grupos de anuros, incluindo espécies próximas e populações confinadas a essas regiões sob complexos de espécies ainda não estudados.

Palavras-chave: Áreas serranas. Bioacústica. Cerrado. Grupo de *Leptodactylus fuscus*. *Leptodactylus cunicularius*. Taxonomia

ABSTRACT

Carvalho, T. R. (2012). Morphological and acoustic characterization of populations assigned to *Leptodactylus cunicularius* Sazima & Bokermann, 1978 (Anura, Leptodactylidae): taxonomic implications. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo.

The advertisement call is the main acoustic signal emitted by males during the reproductive season, and usually plays two basic roles: the attraction of conspecific females sexually receptive, and the advertisement of a male's position to other conspecific / heteroespecific males, contributing to keep the distance among calling individuals. The importance of the advertisement call in anurans as a primary mechanism of reproductive isolation has been extensively documented in the literature, so that calls have been recognized as very useful to the recognition of species identity, in addition to potential application on macro-evolutionary and zoogeographic approaches. The genus *Leptodactylus* currently comprises 89 species, distributed from southern North America and throughout the Neotropics, from Mexico and Antilles to Argentina and Uruguay, whose species are today encompassed within five phonetic groups. The *L. fuscus* group includes 27 species distributed from southern Mexico to southern Uruguay and northern Argentina. *Leptodactylus cunicularius* was described from the Serra do Cipó, a montane region belonging to the southern section of the Serra do Espinhaço mountain range, and later, cited from other three montane regions in the State of Minas Gerais. The aim of the present study is to assess bioacoustic and morphological/morphometric data of populations previously assigned to *Leptodactylus*

cunicularius so as to the characterization of populations and the recognition of potentially new species. We analyzed adult specimens and advertisement calls of eight populations, including the topotypic population, considering that some populations were previously assigned to *L. cunicularius*, and other populations have been unreported so far. Five populations were recognized as different from *L. cunicularius* based on morphological/morphometric and/or bioacoustic data. The other two populations are still under analysis. Montane regions might represent endemism areas for anuran amphibians, since in some regions, it is already possible to detect biogeographic congruence concerning other anuran groups, including related species and populations restricted to these regions under complex of species unstudied.

Key-words: Bioacoustics. Cerrado. *Leptodactylus fuscus* group. *Leptodactylus cunicularius*. Montane regions. Taxonomy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Introdução geral	12
1.2 Caracterização do táxon modelo - grupo de <i>Leptodactylus fuscus</i> e o complexo de <i>L. cunicularius</i>	13
2 OBJETIVOS	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Áreas de estudo	16
3.2 Coleta e análise de dados morfométricos	18
3.3 Coleta e análise de dados bioacústicos	20
3.4 Análises estatísticas	23
4 RESULTADOS	25
4.1 Dados morfométricos	25
4.2 Dados bioacústicos	29
4.3 Comparações interpopulacionais	41
5 DISCUSSÃO	46
REFERÊNCIAS	49
ANEXOS - PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA CIENTÍFICA DO CANDIDATO DURANTE A VIGÊNCIA DO MESTRADO	60
A - CARVALHO, T.R. & RON, S.R. Advertisement call of <i>Leptodactylus labrosus</i> Jiménez de la Espada, 1875 (Anura, Leptodactylidae): an unusual advertisement call within the <i>L. fuscus</i> group. Herpetology Notes, 4, p. 325–326, 2011.	60

B - CARVALHO, T.R., GIARETTA, A.A. & MAGRINI, L. A new species of the *Bokermannohyla circumdata* group (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil, with bioacoustic data on seven species of the genus. Zootaxa, 3321, p. 37–55, 2012.

.....62

1 INTRODUÇÃO

1.1 Introdução geral

O número de espécies de anfíbios conhecidas é crescente com a descoberta de muitas espécies novas anualmente. Considerando, todavia, que uma grande proporção da diversidade do grupo provavelmente ainda é desconhecida (Fouquet *et al.*, 2007). Nesse contexto, o Brasil abriga atualmente a maior riqueza (946 espécies) de espécies de anfíbios (Segalla *et al.*, 2012), sendo que cerca de 97% dessa riqueza (913 espécies) é representada por anuros, o que representa cerca de 16% da riqueza mundial desse grupo (Frost, 2011). Grande parte dessa riqueza pode ser explicada pela diversidade de ecossistemas tropicais e subtropicais do país, principalmente em função da Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal. Nessas formações, ambientes altitudinais florestais e campestres (campos de altitude/cerrados rupestres) são particularmente relevantes por abrigar espécies endêmicas (Caramaschi *et al.*, 2008; Leite *et al.*, 2011; Martins & Giaretta, 2011; Carvalho *et al.*, 2012).

O canto de anúncio é o principal sinal emitido pelos machos de anfíbios durante a estação reprodutiva e geralmente apresentam duas funções básicas: a atração de fêmeas coespecíficas receptivas sexualmente (Blair, 1958; Duellman & Trueb, 1986) e o anúncio da posição de um macho para outros machos, ajudando a manter o espaçamento entre os indivíduos vocalizando (Narins *et al.*, 2007). Além disso, o canto de anúncio abrange ainda um conjunto de outras informações relacionadas a tamanho corporal e, em alguns casos, a identidade individual dos machos em um coro (conjunto de indivíduos vocalizando) (Narins *et al.*, 2007).

A importância do canto de anúncio em anuros como mecanismo primário de isolamento reprodutivo foi extensivamente documentado na literatura (Blair, 1955, 1958; Fouquette, 1960; Littlejohn, 1965), e em decorrência disso, vocalizações tem se mostrado altamente valiosas na determinação da identidade das espécies, particularmente a partir de espécies crípticas (Wynn & Heyer, 2001; Heyer & Reid, 2003; Carvalho, 2012) ou espécies com definições amplas e/ou populações mal definidas (Heyer *et al.*, 1996; Giaretta & Costa, 2007; Kwet, 2007; Padial *et al.*, 2008; Carvalho *et al.*, 2010). Além da morfologia clássica, estudos taxonômicos que incluam dados acústicos são, portanto, relevantes para a compreensão de padrões zoogeográficos (Heyer & Maxson, 1982; Jansen & Schulze, 2012), sistemáticos e macro-evolutivos (Cocroft & Ryan, 1995).

1.2 Caracterização do táxon modelo - grupo de *Leptodactylus fuscus* e o complexo de *L. cunicularius*

O gênero *Leptodactylus* foi proposto por Fitzinger (1826) (cf. Heyer, 1968, 1969a), e atualmente abriga 89 espécies, distribuídas do sul da América do Norte (Texas, EUA) e ao longo de toda a extensão neotropical, do México e Antilhas até a Argentina e Uruguai (Frost, 2011). Cinco grupos fenéticos foram definidos dentro do gênero com base em morfologia e comportamento (Heyer, 1969b): os grupos de *L. melanonotus*, *L. latrans* (anteriormente *L. ocellatus*), *L. pentadactylus*, *L. marmoratus* e *L. fuscus*. A taxonomia desses grupos fenéticos foi revisada em vários trabalhos (Heyer, 1970, 1973, 1974, 1978, 1979, 1994 e 2005; Maxson & Heyer, 1988; Angulo *et al.*, 2003; De Sá *et al.*, 2005).

O grupo de *L. fuscus* é formado por 27 espécies que se distribuem desde o sul do México até o sul do Uruguai e norte da Argentina (Frost, 2011). Uma revisão taxonômica morfológica e acústica foi feita por Heyer (1978). Mais recentemente, Ponssa (2008) apresentou uma hipótese filogenética do grupo com base em morfologia e osteologia. Atualmente, esse grupo é bem conhecido acusticamente, sendo que das 27 espécies aceitas como válidas, apenas duas (*L. tapiti* e *L. ventrimaculatus*) não tem seu canto descrito (cf. Bilate *et al.*, 2006; Carvalho & Ron, 2011). Pelo menos quatro espécies do grupo de *L. fuscus* são tidas como restritas a ambientes serranos: *L. camaquara*, *L. cunicularius*, *L. cupreus* e *L. tapiti* (Sazima & Bokermann, 1978; Caramaschi *et al.*, 2008; Heyer *et al.*, 2008; Leite *et al.*, 2008).

Leptodactylus cunicularius (Sazima & Bokermann, 1978) foi descrito da Serra do Cipó, área serrana (1100–1450 m altitude) pertencente à porção meridional da cadeia montanhosa da Serra do Espinhaço, e posteriormente, citado como presente em outras três regiões serranas do estado de Minas Gerais: Parque Nacional da Serra da Canastra (Haddad *et al.*, 1988); município de Poços de Caldas (Cardoso & Haddad, 1992); e Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro, município de Perdizes (Giaretta *et al.*, 2008; referido como *L. cf. cunicularius*). Essa espécie foi caracterizada acusticamente em sua descrição original, e após trinta anos, recaracterizada em Heyer *et al.* (2008).

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo comparar diferentes populações previamente atribuídas a *Leptodactylus cunicularius* visando a caracterização taxonômica dessas populações com base em dados bioacústicos e morfológicos/morfométricos, e o possível reconhecimento de espécies potencialmente novas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Áreas de estudo

Oito regiões serranas foram amostradas nos estados de Minas Gerais, Goiás e Bahia. Para fins de comparações interpopulacionais, cada população foi tratada como uma unidade taxonômica operacional (UTO), nomeada de acordo com as localidades de ocorrência, discriminadas a seguir: 1) UTO Serra do Cipó (19°15'00.60"S, 43°31'56.55"O; ca. 1100–1450 metros de altitude), que abrange a porção meridional da cadeia montanhosa da Serra do Espinhaço, região metropolitana de Belo Horizonte do estado de Minas Gerais (localidade tipo de *L. cunicularius*); 2) UTO Serra da Canastra (20°15'34.90"S, 46°24'24.33"O; ca. 1050–1450 metros de altitude), que abrange a porção centro-oriental do Parque Nacional da Serra da Canastra, que abrange o município de São Roque de Minas, região oeste do estado de Minas Gerais; 3) UTO Alpinópolis (20°50'36.17"S, 46°22'51.74"O; ca. 800–1100 metros de altitude), região serrana à margem sul da barragem do rio Grande (lago de Furnas), que inclui o município de Alpinópolis, região sul/sudoeste de Minas Gerais; 4) UTO Poços Caldas (21°54'38.51"S, 46°32'20.95"O, ca. 1350–1500 metros de altitude), que abrange a região do planalto isolado no extremo oeste do complexo da Serra da Mantiqueira, que abrange o município de Poços Caldas, região sul/sudoeste de Minas do estado de Minas Gerais; 5) UTO Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro (EPDA-Galheiro) (19°11'41.99"S, 47°06'56.56"O; ca. 800–900 metros de altitude), localizada à margem sul da barragem do rio Araguari, município de Perdizes, região do Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba no estado de Minas Gerais; 6) UTO Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (PESCAN) (17°48'15.92"S, 48°41'40.17"O, ca. 950–1000 metros de

altitude), região serrana no município de Caldas Novas, na região sul do estado de Goiás; 7) UTO Chapada dos Veadeiros ($14^{\circ}10'37.97''\text{S}$, $47^{\circ}35'37.14''\text{O}$; ca. 1150–1250 metros de altitude), que abrange os campos de altitude da região norte do estado de Goiás; e 8) UTO Chapada Diamantina ($13^{\circ}31'28.64''\text{S}$, $41^{\circ}56'33.84''\text{O}$; ca. 900–1400 metros de altitude), campos de altitude da região centro-sul do estado da Bahia. As localidades estão representadas na Figura 1.

Figura 1. Distribuição geográfica das populações em estudo. População topotípica (A), e populações previamente atribuídas a *L. cunicularius* ou desconhecidas até o presente momento (B-H): A - Localidade tipo: Serra do Cipó (MG); B - Serra da Canastra (MG); C - Alpinópolis (MG); D - Poços de Caldas (MG); E - EPDA-Galheiro (MG); F - PESCAN (GO); G - Chapada dos Veadeiros (GO); e H - Chapada Diamantina (BA).

3.2 Coleta e análise dos dados morfométricos

Apenas espécimes machos adultos foram incluídos na quantificação dos dados morfométricos. Consideramos como adultos os espécimes machos com fendas vocais. Os espécimes analisados estão depositados nas seguintes coleções zoológicas: Coleção de anfíbios da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais; Coleção de anuros da Universidade Federal de Uberlândia (AAG-UFU), Uberlândia, Minas Gerais; Museu de Ciências Naturais da Pontifícia Universidade Católica de Belo Horizonte (MCNAM), Belo Horizonte, Minas Gerais; Coleção Herpetológica do Museu de Zoologia João Moojen, Universidade Federal de Viçosa (MZUFV), Viçosa, Minas Gerais; Museu de História Natural da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC), Campinas, São Paulo; e Coleção Célio F. B. Haddad (CFBH), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Rio Claro, São Paulo. Dez caracteres morfométricos foram utilizados, medidos com paquímetro (0,05 mm). Definições e terminologia na obtenção dos caracteres morfométricos estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1. Caracteres morfométricos utilizados na caracterização das populações atribuídas a *L. cunicularius* baseada em espécimes adultos. Definições e terminologia estão de acordo com Duellman (1970) ¹ e Heyer *et al.* (1990) ².

Caracteres morfométricos	Definição
Comprimento rostro-cloacal (CRC) ¹	Medida da ponta do focinho à extremidade posterior do corpo (tamanho total).
Comprimento da cabeça (CC) ¹	Medida da ponta do focinho ao fim da articulação da mandíbula.
Largura da cabeça (LC) ¹	Medida da maior distância entre os dois lados da cabeça, que coincide com o fim da articulação da mandíbula.
Diâmetro do olho (DO) ¹	Diâmetro do globo ocular.
Diâmetro do tímpano (DT) ¹	Diâmetro da borda interna da membrana timpânica.
Distância olho-narina (DON) ¹	Distância entre a extremidade posterior da narina à extremidade anterior do globo ocular.
Comprimento da mão (CM) ²	Distância da base do tubérculo metacarpal interno à ponta do dedo III
Comprimento do fêmur (CF) ²	Distância entre a extremidade posterior do corpo (cloaca) à articulação do joelho.
Comprimento da tíbia (CT) ¹	Distância entre a articulação do joelho e a articulação do tornozelo.
Comprimento do pé (CP) ¹	Distância entre a base do tubérculo metatarsal interno à ponta do artelho IV.

3.3 Coleta e análise dos dados bioacústicos

O complexo de *L. cunicularius* foi definido como sendo as populações de áreas serranas (campos de altitude) com canto de anúncio com o seguinte padrão estrutural básico: séries de cantos não pulsados emitidos muito próximos entre si assemelhando-se a trinados. Vale ressaltar que, além do complexo de *L. cunicularius*, outra espécie do grupo de *L. fuscus* (*L. plaumanni*) apresenta o mesmo padrão básico estrutural de canto de anúncio. Contudo, essa espécie não está restrita a ambientes serranos, apresenta características morfológicas e ambientes de vocalização distintos, além de não apresentar sobreposição na distribuição conhecida em relação às populações do complexo de *L. cunicularius* (cf. Kwet *et al.*, 2001).

As vocalizações foram gravadas com equipamentos profissionais: gravadores digitais (Boss BR 864, Marantz PMD670, Marantz PMB671, e Microtrack II) e microfones direcionais (Sennheiser ME67/K6 ou ME66/K6). Os gravadores foram ajustados à taxa de amostragem de 44,1–48,0 kHz e 16 bits de resolução. As análises das variáveis do canto foram realizadas no programa Soundruler versão 0.9.6.0 (Gridi-Papp, 2007); as figuras de espectrogramas e sonogramas foram obtidas no pacote Seewave versão 1.6 (Sueur *et al.*, 2008) da plataforma R versão 2.13 (R Core Development Team, 2011) com a seguinte configuração: janela Hanning, 85% overlap, e 256 pontos de resolução (FFT). Todas as figuras sonoras foram geradas em seções de dois segundos (Figuras 4–10), exceto a figura referente à população da Chapada Diamantina, gerada em uma seção de quatro segundos (Figura 11). As variáveis bioacústicas foram caracterizadas com as definições sumarizadas na Tabela 2. Os arquivos sonoros estão depositados na base de dados acústicos do Laboratório de Taxonomia, Sistemática e Ecologia Comportamental de Anuros Neotropicais,

Universidade Federal de Uberlândia (UFU), campus Pontal, Ituiutaba, Minas Gerais, Brasil. Espécimes testemunho por localidade: Serra do Cipó (AAG-UFU 1155–56); Serra da Canastra (AAG-UFU 0066); Alpinópolis (AAG-UFU 0959); Poços de Caldas (AAG-UFU 4816–18, AAG-UFU 4995); EPDA-Galheiro (AAG-UFU 2577, AAG-UFU 4779, AAG-UFU 4988–89, AAG-UFU 0856); PESCAN (AAG-UFU 3163, AAG-UFU 4325, AAG-UFU 4340, AAG-UFU 0006, AAG-UFU 0017); Chapada dos Veadeiros (AAG-UFU 0769–71). Em termos de homologia (*sensu* McLister *et al.*, 1995), cada componente passível de individualização das séries de canto foi considerado um canto (= nota; Kwet *et al.*, 2001), e as emissões dos cantos nas populações estudadas são denominadas séries de cantos (= canto; Kwet *et al.*, 2001).

Tabela 2. Variáveis bioacústicas utilizadas na caracterização dos cantos de anúncio. Definições e terminologia essencialmente de acordo com Duellman & Trueb (1986), McLister *et al.* (1995) e Gerhardt & Huber (2002). Abreviações: s = segundos; ms = milisegundos; kHz = kilohertz.

Variáveis bioacústicas	Definição
Duração da série de canto (DSC) (s)	Tempo decorrido do começo ao final de uma sequência de cantos.
Duração dos cantos iniciais (DCI) (ms)	A média aritmética da duração dos três primeiros cantos de cada série de canto.
Duração dos cantos medianos (DCM) (ms)	A média aritmética da duração dos três cantos centrais de cada série de canto.
Duração dos cantos finais (DCF) (ms)	A média aritmética dos três últimos cantos de cada série de canto.
Número de cantos/série (CSC)	Número de cantos em uma sequência de cantos.
Intervalo entre os cantos iniciais (ICI) (ms)	Média aritmética do intervalo entre os primeiros quatro cantos (três intervalos) de cada série de canto.
Intervalo entre os cantos medianos (ICM) (ms)	Média aritmética do intervalo entre os quatro cantos centrais (três intervalos) de cada série de canto.
Intervalo entre os cantos finais (ICF) (ms)	Média aritmética do intervalo entre os últimos quatro cantos (três intervalos) de cada série de canto.
Intervalo entre séries de cantos (ISC) (s)	Tempo decorrido entre duas séries de cantos.
Frequência mínima (FMI) (kHz)	Menor frequência do canto.
Frequência máxima (FMA) (kHz)	Maior frequência do canto.
Frequência dominante (FDO) (kHz)	Pico de frequência em que se concentra a maior parte da energia sonora.
Número de cantos/minuto (CM)	Taxa de repetição dos cantos em um minuto.
Número de séries de cantos/ minuto (SCM)	Taxa de repetição das sequências de canto em um minuto.
Estrutura do canto	Harmônico, pulsado.

3.4 Análises estatísticas

Análises multivariadas (Claude, 2008) foram aplicadas aos dados morfométricos e bioacústicos através dos programas Systat 10.2 (Wilkinson, 2000) e Fitopac 1.6.4. (Shepherd, 2006). As análises de Componentes Principais (PCA) aplicadas aos dados morfométricos e bioacústicos foram utilizadas como teste exploratório para as populações com pequeno tamanho amostral na comparação com as outras populações. A análise discriminante (DA) com função *stepwise* foi utilizada para: i) testar o melhor grupo de variáveis que define/discrimina as populações estudadas (pode ser aplicada *a posteriori* a partir de grupos pré-definidos no PCA); ii) comparar os resultados das análises discriminantes entre os dois subconjuntos para testar se as populações diferem mais em morfologia ou canto; e iii) revelar os grupos mais intimamente e distantemente relacionados.

Para a DA aplicada aos caracteres morfométricos, as UTOs Alpinópolis (MG) e Chapada dos Veadeiros (GO) não foram inicialmente incluídas, considerando o baixo número de espécimes analisados ($N = 3$ de ambas as populações). Pelo mesmo motivo, para a DA aplicada às variáveis bioacústicas, as UTOs Alpinópolis (MG) ($N = 1$) e Chapada dos Veadeiros (GO) ($N = 4$) não foram inicialmente incluídas. Os números de espécimes analisados e indivíduos gravados são insuficientes para a análise de acordo com os pressupostos da DA (Poulsen & French, 2002).

Considerando essas diferenças, somadas ao fato de que a DA aplicada aos dados morfométricos incluindo as cinco populações não ter sido efetiva na separação das UTOs (ver resultados da DA), duas DAs com função *stepwise* foram realizadas separadamente. Uma comparando as populações da Serra do Cipó, Serra da Canastra e Poços de Caldas, e outra comparando as populações da Serra do Cipó, EPDA-Galheiro

e PESCAN, ambas realizadas a partir de caracteres morfométricos e variáveis bioacústicas.

Em relação à população da Chapada Diamantina, os caracteres morfométricos são diagnósticos e conclusivos a ponto de não incluirmos essa UTO nas DAs (maioria dos caracteres morfométricos sem sobreposição de valores em relação às outras sete populações analisadas; N = 12 espécimes analisados) (Figura 3); as variáveis bioacústicas ainda estão sob análise, uma vez que as gravações foram cedidas muito recentemente. De qualquer forma, já é possível adiantar que o padrão da vocalização dessa população é semelhante ao de todas as outras populações em estudo: séries de cantos não pulsados que se assemelham a trinados (Figura 11).

4 RESULTADOS

4.1 Dados morfométricos

Espécimes de três das UTOs estudadas apresentaram caracteres discretos (morfologia externa) diagnósticos: as UTOs i) EPDA-Galheiro (MG) e ii) PESCAN (GO) apresentam um padrão distinto de coloração dorsal (dorso com cor acobreada ou marmoreada com algumas manchas escuras), considerando espécimes em vida ou preservados em álcool, de topótipos de *L. cunicularius*, e das UTOs Serra da Canastra (MG), Alpinópolis (MG) e Poços de Caldas (MG) (padrão dorsal variegado; vide Figuras 2–3); iii) a UTO Chapada Diamantina (BA) apresenta compleição esguia em vista dorsal, diferente da compleição robusta de todas as outras populações em estudo (vide Figura 3). Os dados morfométricos (número de espécimes analisados por localidade e os caracteres quantificados) estão sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3. Caracteres morfométricos de espécimes topotípicos de *L. cunicularius* (Serra do Cipó, MG); de populações atribuídas a *L. cunicularius* (Serra da Canastra, Poços de Caldas e EPDA-Galheiro, MG); e populações adicionais (Alpinópolis, MG; PESCAN e Chapada dos Veadeiros, GO; e Chapada Diamantina, BA). N = número de espécimes analisados. Média±DP (mínimo–máximo).

	Serra do Cipó (MG)	Serra da Canastra (MG)	Alpinópolis (MG)	Poços de Caldas (MG)	EPDA- Galheiro (MG)	PESCAN (GO)	Chapada dos Veadeiros (GO)	Chapada Diamantina (BA)
	N=12	N=12	N=3	N=8	N=8	N=12	N=3	N=12
CRC	38,3±1,6 (36,6–41,8)	38,6±1,8 (37,0–42,1)	38,1±1,8 (36,8–40,2)	41,4±1,1 (40,2–43,2)	40,2±1,2 (38,4–41,6)	41,4±1,4 (38,6–42,8)	40,9±1,2 (40,0–42,3)	31,2±1,3 (28,1–33,8)
CF	19,3±1,7 (17,2–21,2)	20,5±1,0 (19,0–22,5)	20,5±1,4 (19,2–22,0)	23,0±0,5 (22,2–23,8)	21,4±0,4 (20,9–22,2)	21,8±0,9 (19,4–22,4)	20,7±0,3 (20,5–21,0)	15,8±0,7 (14,6–16,9)
CT	22,4±2,0 (19,3–25,4)	23,4±1,4 (21,1–24,7)	23,7±1,4 (22,8–25,4)	26,6±0,8 (25,4–27,5)	24,9±0,7 (23,6–25,9)	25,0±0,8 (23,3–26,2)	23,3±0,2 (23,0–23,4)	18,3±1,1 (16,6–20,4)
CP	22,2±2,2 (18,3–25,8)	23,7±1,4 (22,1–25,8)	24,1±0,9 (23,2–24,9)	26,3±0,7 (24,7–27,0)	24,3±1,0 (23,1–25,8)	24,5±0,9 (22,3–25,5)	22,3±0,6 (21,9–22,9)	19,4±0,9 (18,1–20,9)
CM	9,2±1,0 (7,7–10,8)	9,8±0,6 (9,0–10,9)	10,1±0,6 (9,7–10,7)	10,8±0,6 (10,4–12,0)	10,1±0,3 (9,5–10,5)	10,2±0,5 (9,6–10,8)	9,5±0,4 (9,2–10,0)	7,7±0,5 (6,9–8,4)
CC	14,9±0,8 (13,8–16,5)	14,9±0,6 (14,2–16,0)	14,8±1,2 (14,0–16,2)	16,2±0,5 (15,6–17,3)	15,4±0,6 (14,4–16,0)	15,7±0,7 (14,6–17,0)	14,7±0,2 (14,5–14,8)	12,6±0,7 (11,5–14,2)
LC	13,3±0,5 (12,1–13,9)	13,4±0,6 (12,6–14,5)	13,1±0,5 (12,6–13,6)	14,8±0,5 (14,1–15,4)	13,9±0,8 (13,2–15,0)	14,5±0,6 (13,5–15,3)	13,6±0,1 (13,6–13,7)	10,0±0,6 (9,3–11,5)
DO	3,5±0,1 (3,3–3,7)	3,5±0,2 (3,2–3,7)	3,5±0,1 (3,4–3,6)	3,7±0,2 (3,4–3,9)	3,6±0,2 (3,4–3,8)	3,7±0,2 (3,3–4,1)	3,3±0,2 (3,2–3,5)	2,8±0,2 (2,5–3,0)
DT	2,6±0,3 (2,2–3,0)	2,5±0,2 (2,2–2,8)	2,4±0,2 (2,2–2,5)	2,9±0,2 (2,6–3,2)	2,7±0,3 (2,2–3,0)	2,8±0,2 (2,3–3,0)	2,5±0,1 (2,4–2,6)	1,9±0,1 (1,7–2,1)
DON	3,8±0,3 (3,4–4,3)	3,6±0,2 (3,3–4,0)	3,8±0,3 (3,5–4,1)	3,8±0,3 (3,5–4,3)	3,7±0,1 (3,6–3,8)	3,9±0,3 (3,4–4,3)	3,6±0,1 (3,5–3,7)	3,0±0,2 (2,7–3,3)

Figura 2. Espécimes machos adultos em vida ilustrados por localidade: **A** - Serra do Cipó (MG), localidade tipo; **B** - Serra da Canastra (MG); **C** - Alpinópolis (MG); **D** - Poços de Caldas (MG); **E** - EPDA-Galheiro (MG); **F** - PESCAN (GO); **G** - Chapada dos Veadeiros (GO); **H** - Chapada Diamantina (BA).

Figura 3. Aspecto geral do corpo e padrão de coloração dorsal de espécimes machos adultos de algumas populações estudadas. Acima (da esquerda para a direita): Serra da Canastra, Minas Gerais (AAG-UFU 0578; CRC = 38,7 mm), Poços de Caldas, Minas Gerais (AAG-UFU 4997; CRC = 41,2 mm), e EPDA-Galheiro, Minas Gerais (AAG-UFU 4989; CRC = 40,4 mm); Abaixo: PESCAN, Goiás (AAG-UFU 0017; CRC = 42,7), Serra do Cipó, Minas Gerais, localidade tipo (Ex-AAG 0176, AAG-UFU 1155; CRC = 38,0 mm), e Chapada Diamantina, Bahia (UFMG 3825; CRC = 31,1 mm).

4.2 Dados bioacústicos

Dados bioacústicos (número de indivíduos gravados, cantos analisados, e variáveis quantificadas por localidade) estão sumarizados por localidade na Tabela 4.

Caracterização bioacústica das populações estudadas:

1) Serra do Cipó (MG): o canto de anúncio (Figura 4) consiste em séries de 6–42 cantos/série (média 22,7; DP = 4,4) com duração de 0,41–3,60 s (média 1,80; DP = 0,43) a uma taxa de 6–14 séries/minuto (média 8,7; DP = 2,1), e intervalo entre séries de 1,21–8,53 s (média 3,58; DP = 1,48). Cada série é composta por cantos não pulsados (1–2 harmônicos) emitidos a uma taxa de 101–344 cantos/minuto (média 195,7; DP = 61,7). Duração dos cantos iniciais variou entre 15–37 ms (média 22,0; DP = 4,4), com intervalo entre cantos entre 31–69 ms (média 53,6; DP = 7,8); duração dos cantos medianos entre 22–37 ms (média 27,5; DP = 4,1), com intervalo entre 26–65 ms (média 53,6; DP = 8,9); duração dos cantos finais entre 21–45 ms (média 27,7; DP = 5,4), com intervalo entre 30–75 ms (média 62,1; DP = 10,3). Frequência mínima variou entre 1,72–2,20 kHz (média 1,96 kHz; DP = 0,12); frequência máxima entre 2,77–3,42 kHz (média 3,05 kHz; DP = 0,10); e frequência dominante entre 2,53–3,02 kHz (média 2,65 kHz; DP = 0,10), e corresponde ao harmônico fundamental. Frequência dominante do segundo harmônico variou entre 4,80–5,10 kHz (N = 2 indivíduos).

2) Serra da Canastra (MG): o canto de anúncio (Figura 5) consiste em séries de 6–99 cantos/série (média 29,2; DP = 14,2) com duração de 0,46–7,30 s (média 2,20; DP = 1,01) a uma taxa de 4–19 séries/minuto (média 14,2; DP = 4,4), e intervalo entre séries de 0,59–7,07 s (média 2,10; DP = 0,71). Cada série é composta por cantos não pulsados (1–2 harmônicos) emitidos a uma taxa de 245–482 cantos/minuto (média 376,4; DP = 66,6). Duração dos cantos iniciais variou entre 13–32 ms (média 20,4; DP

= 3,1), com intervalo entre cantos entre 38–74 ms (média 52,5; DP = 7,2); duração dos cantos medianos entre 15–34 ms (média 26,2; DP = 3,3), com intervalo entre 38–72 ms (média 51,2; DP = 7,5); duração dos cantos finais entre 17–34 ms (média 26,8; DP = 2,8), com intervalo entre 36–89 ms (média 55,4; DP = 7,9). Frequência mínima variou entre 1,70–2,20 kHz (média 1,89 kHz; DP = 0,11); frequência máxima entre 2,76–3,18 kHz (média 2,92 kHz; DP = 0,12); e frequência dominante entre 2,34–2,72 kHz (média 2,52 kHz; DP = 0,14), e corresponde ao harmônico fundamental. Frequência dominante do segundo harmônico variou entre 4,70–5,25 kHz (N = 3 indivíduos).

Figura 4. Audiospectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) de um canto de anúncio de *L. cunicularius* da localidade tipo (Serra do Cipó, MG). Arquivo sonoro: Leptod_cuniculariusMG5AAGb. 4 dezembro 2005, 18:45hs, temperatura ar 17,9°C.

Figura 5. Audiospectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) de canto um de anúncio de indivíduo da população da Serra da Canastra, MG. Arquivo sonoro: Leptod_CanastraMG7TRC_AAGmt. 28 novembro 2010, 19:50hs, temperatura ar 18,8°C.

3) Alpinópolis (MG): o canto de anúncio (Figura 6) consiste em séries de 11–52 cantos/série (média 29,5; DP = 9,9) com duração de 0,97–3,67 s (média 2,13; DP = 0,69) a uma taxa de 15–17 séries/minuto (média 16,1; DP = 1,5), e intervalo entre séries de 0,96–2,41 s (média 1,75; DP = 0,42). Cada série é composta por cantos não pulsados (1–2 harmônicos) emitidos a uma taxa de 385–450 cantos/minuto (média 404,0; DP = 65,1). Duração dos cantos iniciais variou entre 13–21 ms (média 16,4; DP = 2,1), com intervalo entre cantos entre 51–58 ms (média 53,2; DP = 1,8); duração dos cantos medianos entre 17–24 ms (média 20,0; DP = 2,6), com intervalo entre 44–57 ms (média 50,9; DP = 4,0); duração dos cantos finais entre 17–29 ms (média 22,5; DP = 3,2), com intervalo entre 44–64 ms (média 54,7; DP = 3,3). Frequência mínima variou entre 2,03–2,13 kHz (média 2,09 kHz; DP = 0,03); frequência máxima entre 3,09–3,28 kHz (média 3,15 kHz; DP = 0,05); e frequência dominante entre 2,72–2,91 kHz (média 2,74 kHz; DP = 0,06), e corresponde ao harmônico fundamental. Frequência dominante do segundo harmônico variou entre 5,35–5,43 kHz (N = 1 indivíduo).

4) Poços de Caldas (MG): o canto de anúncio (Figura 7) consiste em séries de 12–51 cantos/série (média 25,6; DP = 3,5) com duração de 0,97–4,69 s (média 2,09; DP = 0,40) a uma taxa de 3–15 séries/minuto (média 10,2; DP = 3,3), e intervalo entre séries de 0,94–9,63 s (média 2,95; DP = 1,74). Cada série é composta por cantos não pulsados (1–2 harmônicos) emitidos a uma taxa de 82–391 cantos/minuto (média 253,0; DP = 80,8). Duração dos cantos iniciais variou entre 15–26 ms (média 16,3; DP = 4,0), com intervalo entre cantos entre 42–90 ms (média 66,2; DP = 10,6); duração dos cantos medianos entre 20–25 ms (média 21,3; DP = 4,9), com intervalo entre 41–91 ms (média 63,9; DP = 12,3); duração dos cantos finais entre 14–41 ms (média 22,0; DP = 5,8), com intervalo entre 47–100 ms (média 68,8; DP = 11,8). Frequência mínima variou entre 1,36–1,90 kHz (média 1,70 kHz; DP = 0,10); frequência máxima entre 2,53–2,91 kHz

(média 2,73 kHz; DP = 0,07); e frequência dominante entre 2,16–2,53 kHz (média 2,36 kHz; DP = 0,07), e corresponde ao harmônico fundamental. Frequência dominante do segundo harmônico variou entre 4,42–4,57 kHz (N = 3 indivíduos).

Figura 6. Audiospectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) de canto um de anúncio de indivíduo da população de Alpinópolis, MG. Arquivo sonoro: Leptod_AlpinópolisMG1cAAGm671. 16 dezembro 2011, 19:02hs, temperatura ar 19,0°C.

Figura 7. Audiospectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) de um canto de anúncio de indivíduo da população de Poços de Caldas, MG. Arquivo sonoro: Leptod_PoçosMG9bTRC_AAGmt. 2 novembro 2010, 18:51hs, temperatura ar 14,0°C.

5) EPDA-Galheiro (MG): o canto de anúncio (Figura 8) consiste em séries de 4–68 cantos/série (média 20,0; DP = 5,8) com duração de 0,18–4,14 s (média 1,20; DP = 0,39) a uma taxa de 21–34 séries/minuto (média 25,8; DP = 4,5), e intervalo entre séries de 0,30–4,38 s (média 1,11; DP = 0,29). Cada série é composta por cantos não pulsados (1–3 harmônicos) emitidos a uma taxa de 350–629 cantos/minuto (média 490,3; DP = 79,1). Duração dos cantos iniciais variou entre 8–19 ms (média 14,7; DP = 2,4), com intervalo entre cantos entre 39–54 ms (média 43,9; DP = 2,9); duração dos cantos medianos entre 11–27 ms (média 18,2; DP = 3,9), com intervalo entre 34–62 ms (média 43,2; DP = 5,0); duração dos cantos finais entre 10–28 ms (média 18,8; DP = 4,6), com intervalo entre 38–58 ms (média 46,9; DP = 4,7). Frequência mínima variou entre 1,64–2,00 kHz (média 1,83 kHz; DP = 0,08); frequência máxima entre 2,66–3,22 kHz (média 2,93 kHz; DP = 0,11); e frequência dominante entre 2,34–2,72 kHz (média 2,53 kHz; DP = 0,12), e corresponde ao harmônico fundamental. Frequência dominante do segundo harmônico variou entre 4,75–5,16 kHz (N = 4 indivíduos); frequência dominante do terceiro harmônico variou entre 7,07–7,09 kHz (N = 1 indivíduo).

6) PESCAN (GO): o canto de anúncio (Figura 9) consiste em séries de 5–29 cantos/série (média 13,2; DP = 2,7) com duração de 0,23–1,85 s (média 0,77; DP = 0,17) a uma taxa de 25–51 séries/minuto (média 38,1; DP = 7,7), e intervalo entre séries de 0,31–2,62 s (média 0,83; DP = 0,21). Cada série é composta por cantos não pulsados (1–3 harmônicos) emitidos a uma taxa de 431–632 cantos/minuto (média 495,7; DP = 65,1). Duração dos cantos iniciais variou entre 14–35 ms (média 23,5; DP = 5,7), com intervalo entre cantos entre 27–39 ms (média 33,1; DP = 3,1); duração dos cantos medianos entre 14–36 ms (média 24,3; DP = 6,6), com intervalo entre 28–44 ms (média 35,4; DP = 3,6); duração dos cantos finais entre 15–34 ms (média 24,5; DP = 6,2), com intervalo entre 29–53 ms (média 38,4; DP = 4,4). Frequência mínima variou entre 1,64–

2,06 kHz (média 1,97 kHz; DP = 0,11); frequência máxima entre 2,85–3,18 kHz (média 3,06 kHz; DP = 0,07); e frequência dominante entre 2,50–2,72 kHz (média 2,67 kHz; DP = 0,07), e corresponde ao harmônico fundamental. Frequência dominante do segundo harmônico variou entre 4,69–5,16 kHz (N = 3 indivíduos); frequência dominante do terceiro harmônico variou entre 7,08–7,87 kHz (N = 2 indivíduos).

Figura 8. Audiospectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) de um canto de anúncio de indivíduo da população da EPDA-Galheiro, MG. Arquivo sonoro: Leptod_GalheiroMG2AAGb. 22 novembro 2003, 20:00hs, temperatura ar 22,9°C.

Figura 9. Audiospectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) de um canto de anúncio de indivíduo da população de Caldas Novas, GO. Arquivo sonoro: Leptod_CaldasGO9eTRC_AAGmt. 7 novembro 2010, 20:30hs, temperatura ar 21,0°C.

7) Chapada dos Veadeiros (GO): o canto de anúncio (Figura 10) consiste em séries de 3–21 cantos/série (média 9,4; DP = 1,8) com duração de 0,19–1,50 s (média 0,63; DP = 0,15) a uma taxa de 24–36 séries/minuto (média 30,8; DP = 5,0), e intervalo entre séries de 0,77–4,32 s (média 1,36; DP = 0,54). Cada série é composta por cantos não pulsados (1–3 harmônicos) emitidos a uma taxa de 212–325 cantos/minuto (média 272,0; DP = 50,4). Duração dos cantos iniciais variou entre 6–30 ms (média 21,9; DP = 4,9), com intervalo entre cantos entre 40–57 ms (média 46,8; DP = 4,1); duração dos cantos medianos entre 20–33 ms (média 27,4; DP = 2,1), com intervalo entre 33–55 ms (média 45,1; DP = 3,3); duração dos cantos finais entre 14–33 ms (média 28,1; DP = 2,5), com intervalo entre 33–65 ms (média 46,2; DP = 6,2). Frequência mínima variou entre 1,36–1,90 kHz (média 1,94 kHz; DP = 0,04); frequência máxima entre 2,53–2,91 kHz (média 3,06 kHz; DP = 0,14); e frequência dominante entre 2,16–2,53 kHz (média 2,63 kHz; DP = 0,10), e corresponde ao harmônico fundamental. Frequência dominante do segundo harmônico variou entre 4,93–5,30 kHz (N = 3 indivíduos); frequência dominante do terceiro harmônico variou entre 8,31–8,63 kHz (N = 1 indivíduo).

Figura 10. Audiospectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) de um canto de anúncio de indivíduo da população da Chapada dos Veadeiros, GO. Arquivo sonoro: Leptod_VeadeirosGO1cAAGm671. 16 novembro 2011, 18:56hs, temperatura ar 21,0°C.

Figura 11. Audiospectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) de um canto de anúncio de indivíduo da população da Chapada Diamantina, BA. Arquivo sonoro: Leptodactylus gr. fuscus_Piatã_BA_15_01_2010_Ind 2 (take4). 15 janeiro 2010.

Tabela 4. Variáveis bioacústicas de espécimes topotípicos de *L. cunicularius*, de populações atribuídas a *L. cunicularius* (Serra da Canastra; Alpinópolis; Poços de Caldas; e EPDA-Galheiro), e populações adicionais (PESCAN; Chapada dos Veadeiros; e Chapada Diamantina).

Média±DP (mínimo–máximo); N = número de indivíduos analisados; (número de cantos de anúncio analisados).

	Serra do Cipó (MG) N=15 (107)	Serra da Canastra (MG) N=10 (237)	Alpinópolis (MG) N=1 (21)	Poços de Caldas (MG) N=12 (203)	EPDA-Galheiro (MG) N=11 (331)	PESCAN (GO) N=14 (460)	Chapada dos Veadeiros (GO) N=4 (115)
DSC	1,80±0,43 (0,41–3,60)	2,20±1,01 (0,46–7,30)	2,13±0,69 (0,97–3,67)	2,09±0,40 (0,97–4,69)	1,20±0,39 (0,18–4,14)	0,77±0,17 (0,23–1,85)	0,63±0,15 (0,19–1,50)
DCI	22,0±4,4 (15–37)	20,4±3,1 (13–32)	16,4±2,1 (13–21)	16,3±4,0 (15–26)	14,7±2,4 (8–19)	23,5±5,7 (14–35)	21,9±4,9 (6–30)
DCM	27,5±4,1 (22–37)	26,2±3,3 (15–34)	20,0±2,6 (17–24)	21,3±4,9 (20–25)	18,2±3,9 (11–27)	24,3±6,6 (14–36)	27,4±2,1 (20–33)
DCF	27,7±5,4 (21–45)	26,8±2,8 (17–34)	22,5±3,2 (17–29)	22,0±5,8 (14–41)	18,8±4,6 (10–28)	24,5±6,2 (15–34)	28,1±2,5 (14–33)
CSC	22,7±4,4 (6–42)	29,2±14,2 (6–99)	29,5±9,9 (11–52)	25,6±3,5 (12–51)	20,0±5,8 (4–68)	13,2±2,7 (5–29)	9,4±1,8 (3–21)
ICI	53,6±7,8 (31–69)	52,5±7,2 (38–74)	53,2±1,8 (51–58)	66,2±10,6 (42–90)	43,9±2,9 (39–54)	33,1±3,1 (27–39)	46,8±4,1 (40–57)
ICM	53,6±8,9 (26–65)	51,2±7,5 (38–72)	50,9±4,0 (44–57)	63,9±12,3 (41–91)	43,2±5,0 (34–62)	35,4±3,6 (28–44)	45,1±3,3 (33–55)
ICF	62,1±10,3 (30–75)	55,4±7,9 (36–89)	54,7±3,3 (44–64)	68,8±11,8 (47–100)	46,9±4,7 (38–58)	38,4±4,4 (29–53)	46,2±6,2 (33–65)
ISC	3,58±1,48 (1,21–8,53)	2,10±0,71 (0,59–7,07)	1,75±0,42 (0,96–2,41)	2,95±1,74 (0,94–9,63)	1,11±0,29 (0,30–4,38)	0,83±0,21 (0,31–2,62)	1,36±0,54 (0,77–4,32)
FMI	1,96±0,12 (1,72–2,20)	1,89±0,11 (1,70–2,20)	2,09±0,03 (2,03–2,13)	1,70±0,10 (1,36–1,90)	1,83±0,08 (1,64–2,00)	1,97±0,11 (1,64–2,06)	1,94±0,04 (1,36–1,90)
FMA	3,05±0,10 (2,77–3,42)	2,92±0,12 (2,76–3,18)	3,15±0,05 (3,09–3,28)	2,73±0,07 (2,53–2,91)	2,93±0,11 (2,66–3,22)	3,06±0,07 (2,85–3,18)	3,06±0,14 (2,53–2,91)
FDO	2,65±0,10 (2,53–3,02)	2,52±0,14 (2,34–2,72)	2,74±0,06 (2,72–2,91)	2,36±0,07 (2,16–2,53)	2,53±0,12 (2,34–2,72)	2,67±0,07 (2,50–2,72)	2,63±0,10 (2,16–2,53)
CM	195,7±61,7 (101–344)	376,4±66,6 (245–482)	404,0±65,1 (385–450)	253,0±80,8 (82–391)	490,3±79,1 (350–629)	495,7±65,1 (431–632)	272,0±50,4 (212–325)
SCM	8,7±2,1 (6–14)	14,2±4,4 (4–19)	16,1±1,5 (15–17)	10,2±3,3 (3–15)	25,8±4,5 (21–34)	38,1±7,7 (25–51)	30,8±5,0 (24–36)

4.3 Comparações interpopulacionais

A Análise Discriminante (DA) incluindo todas as UTOs selecionou cinco caracteres morfométricos (CRC, CF, CP e CM, e o coeficiente CM/CRC), e não conseguiu um grupo de caracteres que diferenciasses eficientemente todas as populações. A população de Poços de Caldas (MG) ficou relativamente separada de todas as outras populações, levando em conta que 75% dos espécimes (6 dos 8) foram agrupados corretamente. A população do PESCAN (GO) teve 67% dos espécimes (8 dos 12) agrupados corretamente. As outras populações tiveram menos de 60% dos espécimes agrupados corretamente. As populações de EPDA-Galheiro (MG) e PESCAN (GO) tiveram grande sobreposição, assim como as populações da Serra do Cipó (MG) e Serra da Canastra (MG).

Em contrapartida, a DA incluindo as UTOs Serra do Cipó (MG), Serra da Canastra (MG) e Poços de Caldas (MG), separou essas populações (Wilk's Lambda = 0,14; gl = 29; $p < 0,01$) através de diferenças em sete caracteres morfométricos (CT, CP, CC, LC, DO, DT e DON) (Figura 12). A população de Poços de Caldas teve todos os espécimes agrupados corretamente. As populações da Serra do Cipó e Serra da Canastra tiveram 75% dos espécimes agrupados corretamente, com sobreposição considerável nas duas funções canônicas.

Figura 12. Análise discriminante a partir de caracteres morfométricos da população topotípica (Serra do Cipó, CIP), e populações atribuídas a *L. cunicularius* (Serra da Canastra, CAN; e Poços de Caldas, POC).

A DA incluindo as UTOs Serra do Cipó (MG), EPDA-Galheiro (MG) e PESCAN (GO), separou essas populações (Wilk's Lambda = 0,19; gl = 29; $p < 0,01$) através de diferenças em sete caracteres morfométricos (CRC, CF, CT, CP, CM, CC e LC) (Figura 13). A população da Serra do Cipó teve 92% dos seus espécimes agrupados corretamente. As populações da EPDA-Galheiro e PESCAN tiveram grande sobreposição nas duas funções canônicas.

Figura 13. Análise discriminante a partir de caracteres morfométricos da população topotípica (Serra do Cipó, CIP), população atribuída a *L. cunicularius* (EPDA-Galheiro, GAL), e população adicional (PESCAN, PES).

A DA com treze variáveis bioacústicas (todas as variáveis, exceto DCF), incluindo todas as UTOs, conseguiu separar todas as populações nas duas primeiras funções canônicas (Wilk's Lambda = 0,002; gl = 45; $p < 0,001$). A população da Serra do Cipó (MG) teve 91% dos indivíduos analisados agrupados corretamente, ao passo que as outras quatro populações tiveram todos os indivíduos agrupados corretamente.

Considerando as UTOs Serra do Cipó (MG), Serra da Canastra (MG) e Poços de Caldas (MG), dez variáveis bioacústicas (DSC, DCI, ICI, ICM, ICF, FMI, FMA, FDO, CM e SCM) foram selecionadas na DA na discriminação das três populações (Wilk's Lambda = 0,02; gl = 30; $p < 0,01$) (Figura 14). A população de Poços de Caldas teve

92% dos indivíduos agrupados corretamente. As populações da Serra do Cipó e Serra da Canastra tiveram todos os espécimes agrupados corretamente.

Figura 14. Análise discriminante a partir de variáveis bioacústicas das populações da população topotípica (Serra do Cipó, CIP), e populações atribuídas a *L. cunicularius* (Serra da Canastra, CAN; e Poços de Caldas, POC).

Considerando as UTOs Serra do Cipó (MG), EPDA-Galheiro (MG) e PESCAN (GO), doze variáveis bioacústicas (DSC, DCI, DCF, CSC, ICM, ICF, ISC, FMI, FMA, FDO e CM) foram selecionadas na DA na discriminação de todas as populações (Wilk's Lambda = 0,006; gl = 28; $p < 0,01$) (Figura 15). Todas as populações tiveram todos os indivíduos agrupados corretamente.

Figura 15. Análise discriminante a partir de variáveis bioacústicas das populações da população topotípica (Serra do Cipó, CIP), população atribuída a *L. cunicularius* (EPDA-Galheiro, GAL), e população adicional (PESCAN, PES).

A Análise de Componentes Principais (PCA) incluindo as UTOs Alpinópolis (MG) e Chapada dos Veadeiros (GO), a partir de caracteres morfométricos, agrupou os dois dos três espécimes da população de Alpinópolis à população da Serra da Canastra, e um espécime foi posicionado entre as populações da Serra da Canastra e Poços de Caldas; e agrupou os três indivíduos da Chapada dos Veadeiros à população da Serra do Cipó. A PCA baseada em variáveis bioacústicas também agrupou o único indivíduo analisado da UTO Alpinópolis à população da Serra da Canastra. Contudo, os quatro indivíduos analisados da UTO Chapada dos Veadeiros foram agrupados marginalmente às populações de EPDA-Galheiro (MG) e Caldas Novas (GO).

5 DISCUSSÃO

O canto de anúncio das oito populações analisadas apresentou o mesmo padrão estrutural básico (séries de cantos não pulsados que se assemelham a trinados). Contudo, a partir das quatorze variáveis bioacústicas quantificadas, todas as quatro populações incluídas nas análises multivariadas (Serra da Canastra, Poços de Caldas, EPDA-Galheiro e PESCAN) foram diferenciadas entre si e diferenciadas da população topotípica (Serra do Cipó). Além disso, as populações de Poços de Caldas (MG), EPDA-Galheiro (MG), PESCAN (GO) e Chapada Diamantina (BA) podem ser diagnosticadas da população topotípica de *L. cunicularius* apenas por morfologia e/ou morfometria. A população de Poços de Caldas (MG) pode ser diferenciada de todas as outras populações analisadas por caracteres morfométricos (p. ex., valores distintos de CF, CT e CP, estatisticamente significantes; teste simulado por ANOVA); as populações da EPDA-Galheiro (MG) e PESCAN (GO) podem ser diferenciadas de todas as populações pelo padrão de coloração dorsal distinto (acobreado ou marmoreado com manchas escuras) do padrão variegado de *L. cunicularius*; a população da Chapada Diamantina (BA) pode ser diferenciada pela compleição esguia em vista dorsal, em comparação à compleição robusta de todas as outras populações, além de diferenças morfométricas acentuadas (p. ex., CRC 28,1–33,8 mm; N = 12 machos adultos provenientes da Chapada Diamantina; CRC combinado das outras sete populações igual a 36,6–43,2 mm). A população mais similar morfologicamente à topotípica foi a da Serra da Canastra (MG), que foi apenas diagnosticada através de dados bioacústicos. Considerando todas as diferenças obtidas a partir dos dados morfológicos/morfométricos e bioacústicos entre as populações estudadas, cinco das

populações estudadas (Serra da Canastra, Poços de Caldas, EPDA-Galheiro, PESCAN e Chapada Diamantina) devem ser nomeadas como espécies plenas.

As outras duas populações, provenientes de Alpinópolis (MG) e da Chapada dos Veadeiros (GO) ainda estão sob análise. Com os dados disponíveis até o presente momento, incluindo os resultados preliminares a partir das PCAs, a população de Alpinópolis (MG) se sobrepôs quase totalmente à população da Serra da Canastra. Em contrapartida, a população da Chapada dos Veadeiros (GO) se sobrepôs à população topotípica em termos morfométricos, enquanto em termos bioacústicos se assemelha mais às populações da EPDA-Galheiro (MG) e PESCAN (GO). Embora os dados preliminares tenham relacionado a população de Alpinópolis (MG) à população de Serra da Canastra, essas populações estão isoladas entre si pelo Rio Grande. Coleta de espécimes, gravações de cantos e análises futuras serão necessárias para acessar sua identidade específica. Em relação à população da Chapada dos Veadeiros (GO), conseguimos detectar dados morfológicos/morfométricos e bioacústicos diagnósticos. Contudo, uma melhor amostragem dessa população é ainda necessária para acessar a identidade específica dessa população, a fim de confirmar a sua diferenciação em relação às outras populações estudadas.

Várias regiões serranas do sudeste e centro-oeste do Brasil, como as amostradas no presente estudo são reconhecidas como áreas de endemismo para anfíbios anuros, ao passo que em algumas delas, é possível detectar congruência biogeográfica para outras espécies de *Leptodactylus* e outros grupos de anuros, incluindo espécies próximas e populações restritas a essas regiões sob complexos de espécies ainda não estudados, tais como: *Bokermannohyla* (Cardoso, 1983; Vasconcelos & Giaretta, 2003; Lugli & Haddad, 2006; Napoli & Juncá, 2006; Leite *et al.*, 2011; Carvalho *et al.*, 2012); espécies do grupo de *Hypsiboas polytaenius* (Caramaschi & Cruz, 1999, 2000, 2004);

Odontophrynini (Giaretta & Sazima, 1993; Caramaschi, 1996; Eterovick & Sazima, 1998; Cruz & Napoli, 2010; Caramaschi & Napoli, 2012); grupo de *Phyllomedusa centralis* (Lutz, 1966; Bokermann, 1965; Brandão, 2002; Giaretta *et al.*, 2007). Esforço de amostragens e estudos detalhados nas áreas de endemismo de grupos de anuros poderão contribuir para a melhor compreensão da riqueza de espécies de anuros confinadas às regiões de altitude do sudeste e centro-oeste do Brasil. Vale salientar que os dados acústicos utilizados nas comparações interpopulacionais se mostraram muito eficazes na discriminação das populações estudadas, enquanto os dados morfológicos/morfométricos acessados se mostraram mais conservados. Portanto, é essencial que a linha de evidência bioacústica seja incluída em estudos populacionais com abordagem taxonômica. Nesse contexto, é fundamental o esforço para gravações de boa qualidade em campo, além de amostragem considerável de indivíduos gravados, o que nos possibilitou analisar um maior número de variáveis bioacústicas, e utiliza-las nas análises para a discriminação das populações estudadas.

REFERÊNCIAS

- ANGULO, A., COCROFT, R.B. & REICHLE, S. Species identity in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Peru. **Herpetologica**, 59, p. 490–504, 2003.
- BILATE, M., WOGEL, H., WEBER, L.N. & ABRUNHOSA, P.A. Vocalizações e girino de *Leptodactylus spixi* Heyer, 1983 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro**, 64(3), p. 235–245, 2006.
- BLAIR, W.F. Mating call and stage of speciation in the *Microhyla olivacea*-*M. carolinensis* complex. **Evolution**, 9, p. 469–480, 1955.
- BLAIR, W.F. Mating call in the speciation of anuran amphibians. **The American Naturalist**, 92, p. 27–51, 1958.
- BOKERMANN, W.C.A. Três novos batráquios da região central de Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, 25, p. 257–264, 1965.
- BRANDÃO, R.A. A new species of *Phyllomedusa* Wagler, 1830 (Anura: Hylidae) from central Brazil. **Journal of Herpetology**, 36, p. 571–578, 2002.
- CARAMASCHI, U. Nova espécie de *Odontophrynus* Reinhardt & Lütken, 1862 do Brasil Central (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Boletim do Museu Nacional. Nova série, Zoologia, Rio de Janeiro**, 367, p. 1–8, 1996.

CARAMASCHI, U. & CRUZ, C.A.G. Duas espécies novas do grupo de *Hyla polytaenia* Cope, 1870 do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Boletim do Museu Nacional. Nova série, Zoologia, Rio de Janeiro**, 403, p. 1–10, 1999.

CARAMASCHI, U. & CRUZ, C.A.G. Duas espécies novas de *Hyla* Laurenti, 1768 do Estado de Goiás, Brasil (Amphibia, Anura, Hylidae). **Boletim do Museu Nacional. Nova série, Zoologia, Rio de Janeiro**, 422, p. 1–12, 2000.

CARAMASCHI, U. & CRUZ, C.A.G. Duas novas espécies de *Hyla* do grupo de *H. polytaenia* Cope, 1870 do sudeste do Brasil (Amphibia, Anura, Hylidae). **Boletim do Museu Nacional. Rio de Janeiro**, 62, p. 247–254, 2004.

CARAMASCHI, U., FEIO, R.N. & SÃO-PEDRO, V.A. A new species of *Leptodactylus* Fitzinger (Anura, Leptodactylidae) from Serra do Brigadeiro, State of Minas Gerais, Southeastern Brazil. **Zootaxa**, 1861, p. 44–54, 2008.

CARAMASCHI, U. & NAPOLI, M.F. Taxonomic revision of the *Odontophrynus cultripes* species group, with description of a new related species (Anura, Cycloramphidae). **Zootaxa**, 3155, p. 1–20, 2012.

CARDOSO, A.J. Descrição e biologia de uma nova espécie de *Hyla* Laurenti, 1768 (Amphibia, Anura, Hylidae). **Iheringia. Série Zoologia**, 62, p. 37–45, 1983.

CARDOSO, A.J. & HADDAD, C.F.B. Diversidade e turno de vocalizações de anuros em comunidade neotropical. **Acta Zoológica Lilloana**, 41, p. 93–105, 1992.

CARVALHO, T.R. A new species of *Pseudopaludicola* Miranda-Ribeiro (Leiuiperinae: Leptodactylidae: Anura) from the Cerrado of southeastern Brazil with a distinctive advertisement call pattern. **Zootaxa**, 3328, p. 47–54, 2012.

CARVALHO, T.R., GIARETTA, A.A. & FACURE, K.G. A new species of *Hypsiboas* Wagler (Anura: Hylidae) closely related to *H. multifasciatus* Günther from southeastern Brazil. **Zootaxa**, 2521, p. 37–52, 2010.

CARVALHO, T.R. & RON, S.R. Advertisement call of *Leptodactylus labrosus* Jiménez de la Espada, 1875 (Anura, Leptodactylidae): an unusual advertisement call within the *L. fuscus* group. **Herpetology Notes**, 4, p. 325–326, 2011.

CARVALHO, T.R., GIARETTA, A.A. & MAGRINI, L. A new species of the *Bokermannohyla circumdata* group (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil, with bioacoustic data on seven species of the genus. **Zootaxa**, 3321, p. 37–55, 2012.

CLAUDE, J. **Morphometrics with R**. New York: Springer, 316 pp., 2008.

COCROFT, R.B. & RYAN, M.J. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. **Animal Behaviour**, 49, p. 283–303, 1995.

CRUZ, C.A.G. & NAPOLI, M.F. A new species of smooth horned frog, genus *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro (Amphibia: Anura: Cycloramphidae), from the Atlantic Rainforest of eastern Bahia, Brazil. **Zootaxa**, 2660, p. 57–67.

DE SÁ, R.O., HEYER, W.R. & CAMARGO, A. A phylogenetic analysis of *Vanzolinius* Heyer, 1974 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae): taxonomic and life history implications. **Arquivos do Museu Nacional**, 63(4), p. 707–726, 2005.

DUELLMAN, W.E. The hylid frogs of Middle America. **Monographs of the Museum of Natural History of the University of Kansas**, 1, p. 1–753, 1970.

DUELLMAN, W.E. & TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. New York: McGraw-Hill, 670 pp., 1986.

ETEROVICK, P.C. & SAZIMA, I. New species of *Proceratophrys* (Anura: Leptodactylidae) from southeastern Brazil. **Copeia**, 1998, p. 159–164, 1998.

FOUQUET, A., GILLES, A., VENCES, M., MARTY, C., BLANC, M. & GEMMELL, N.J. Underestimation of species richness in neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. **Plos One**, 10, p. 1–10, 2007.

FOUQUETTE, M.J. Mechanisms in Three Sympatric Treefrogs in the Canal Zone. **Evolution**, 14(4), p. 484–497, 1960.

FROST, D.R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference**. Versão 5.5. Disponível em: <<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>>. Acesso em: 04 junho 2012.

GIARETTA, A.A. & SAZIMAI, I. Nova espécie de *Proceratophrys* Mir. Rib. do sul de Minas Gerais, Brasil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 53, p. 13–19, 1993.

GIARETTA, A.A. & COSTA, H.C.M. A redescription of *Leptodactylus jolyi* Sazima and Bokermann (Anura, Leptodactylidae) and the recognition of a new closely related species. **Zootaxa**, 1608, p. 1–10, 2007.

GIARETTA, A.A., OLIVEIRA-FILHO, J.C. & KOKUBUM, M.N.C. A new *Phyllomedusa* Wagler (Anura, Hylidae) with reticulated pattern on flanks from southeastern Brazil. **Zootaxa**, 1614, p. 31–41, 2007.

GIARETTA, A.A., MENIN, M., FACURE, K.G., KOKUBUM, M.N.C. & OLIVEIRA-FILHO, J.C. Species richness, relative abundance, and habitat of reproduction of terrestrial frogs in the Triângulo Mineiro region, Cerrado biome, southeastern Brazil. **Iheringia. Série Zoologia**, 98(2), p. 181–188, 2008.

GRIDI-PAPP, M. **Sound Ruler**. Versão 0.9.6.0. Disponível em: <<http://soundruler.sourceforge.net>>. 2007.

HADDAD, C.F.B., ANDRADE, G.V. & CARDOSO, A.J. Anfíbios Anuros no Parque Nacional da Serra da Canastra, Estado de Minas Gerais. **Brasil Florestal**, 64, p. 1–12, 1988.

HEYER, W.R. The proper name for the type-species of the genus *Leptodactylus*. **Copeia**, 1, p. 160–162, 1968.

HEYER, W.R. 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 Natural History Museum**, 155, p. 1–14, 1969.

HEYER, W.R. Biosystematics studies on the frog genus *Leptodactylus*. **Ph.D. Dissertation, University of Southern California**, 234 pp., 1969.

HEYER, W.R. Studies on the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae) VI. Biosystematics of the *melanonotus* group. **Contributions in Science, Los Angeles County Natural History Museum**, 191, p. 1–48, 1970.

HEYER, W.R. Systematics of the *marmoratus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Contributions in Science, Los Angeles County Natural History Museum**, 251, p. 1–50, 1973.

HEYER, W.R. Relationships of the *marmoratus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. **Contributions in Science, Los Angeles County Natural History Museum**, 251, p. 1–45, 1974.

HEYER, W.R. Systematics of the *fuscus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Science Bulletin, Los Angeles County Natural History Museum**, 29, p. 1–85, 1978.

HEYER, W.R. Systematics of the *pentadactylus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Smithsonian contributions to Zoology**, 301, p. 1–43, 1979.

HEYER, W.R. Variation within the *Leptodactylus podicipinus–wagneri* complex of frogs (Amphibia: Leptodactylidae). **Smithsonian contributions to Zoology**, 546, p. 1–124, 1994.

HEYER, W.R. 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, Museu da Universidade de São Paulo**, 37(3), p. 269–348, 2005.

HEYER, W.R. & MAXSON, L.R. **Distributions, Relationships, and Zoogeography of Lowland Frogs: The *Leptodactylus* Complex in South America, with Special Reference to Amazonia** (Cap. 20), 14 pp. In: PRANCE, G.T. (ed.) *Biological Diversification in the Tropics*. Columbia University Press, New York, 714 pp., 1982.

HEYER, W.R., RAND, A.S., CRUZ, C.A.G., PEIXOTO, O.L. & NELSON, C.E. Frogs of Boracéia. **Arquivos de Zoologia**, 31(4), p. 231–410, 1990.

HEYER, W.R., GARCÍA-LOPEZ, J.M. & CARDOSO, A.J. Advertisement call variation in the *Leptodactylus mystaceus* (Amphibia: Leptodactylidae) species complex with a description of a new sibling species. **Amphibia-Reptilia**, 17, p. 7–31, 1996.

HEYER, W.R. & REID, Y.R. Does advertisement call variation coincide with genetic variation in the genetically diverse frog taxon currently known as *Leptodactylus fuscus* (Amphibia: Leptodactylidae)? **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, 75(1), p. 39–54, 2003.

HEYER, W.R., HEYER, M.M. & DE SÁ, R.O. *Leptodactylus cunicularius* Sazima and Bokermann Rabbit-burrow frog. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, 845(1), p. 1–5, 2008.

JANSEN, M. & SCHULZE, A. Molecular, morphology and bioacoustic data suggest Bolivian distribution of a large species of the *Leptodactylus pentadactylus* group (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). **Zootaxa**, 3307, p. 35–47, 2012.

KWET, A. Bioacoustic variation in the genus *Adenomera* in southern Brazil, with revalidation of *Leptodactylus nanus* Müller, 1922 (Anura, Leptodactylidae). **Museum für Naturkund, Zoologie Reihe Berlin**, 83, p. 56–68, 2007.

KWET, A., DI-BERNARDO, M. & GARCIA, P.C.A. Taxonomic Status of *Leptodactylus geminus* Barrio, 1973. **Journal of Herpetology**, 35(1), p. 56–62, 2001.

LEITE, F.S.F., JUNCÁ, F.A. & ETEROVICK, P.C. Status do conhecimento, endemismo e conservação de anfíbios anuros da Cadeia do Espinhaço, Brasil. **Megadiversidade**, 4(1–2), p. 158–176, 2008.

LEITE, F.S.F., PEZZUTI, T.L. & DRUMMOND, L.O. A new species of *Bokermannohyla* from the Espinhaço Range, State of Minas Gerais, Southeastern Brazil. **Herpetologica**, 67(4), p. 440–448, 2011.

LITTLEJOHN, M.J. Premating Isolation in the *Hyla ewingi* Complex (Anura: Hylidae). **Evolution**, 19(2), p. 234–243, 1965.

LUGLI, L. & HADDAD, C.F.B. A new species of the *Bokermannohyla pseudopseudis* group from central Bahia, Brazil (Amphibia, Hylidae). **Herpetologica**, 62(4), p. 453–465, 2006.

LUTZ, B. *Pithecopus ayeaye*, a new Brazilian hyloid with vertical pupils and grasping feet. **Copeia**, 1966, p. 236–240, 1966.

MARTINS, L.B. & GIARETTA, A.A. A new species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro (Amphibia: Anura: Cycloramphidae) from central Brazil. **Zootaxa**, 2880, p. 41–50, 2011.

MCLISTER, J.D., STEVENS, E.D. & BOGART, J.P. Comparative contractile dynamics of calling and locomotor muscles in three hyloid frogs. **The Journal of Experimental Biology**, 198, p. 1527–1538, 1995.

NAPOLI, M.F. & JUNCÁ, F.A. A new species of the *Bokermannohyla circumdata* group (Amphibia: Anura: Hylidae) from Chapada Diamantina, State of Bahia, Brazil. **Zootaxa**, 1244, p. 57–68, 2006.

NARINS, P.M., FENG, A.S., FAY, R.R. & POPPER, A.N. **Hearing and Sound Communication in Amphibians**. New York: Springer, 362 pp., 2007.

PADIAL, J.M., KÖHLER, J., MUÑOZ, A. & RIVA, I.L. Assessing the taxonomic status of tropical frogs through bioacoustics: geographical variation in the advertisement calls in the *Eleutherodactylus discoidalis* species group (Anura). **Zoological Journal of the Linnean Society**, 152, p. 353–365, 2008.

PONSSA, M.L. 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(3), p. 249–266, 2008.

POULSEN, J. & FRENCH, A. **Discriminant Function Analysis (DA)**. San Francisco State University. Disponível em: <<http://userwww.sfsu.edu/~efc/classes/biol710/discrim/discrim.htm>>. Acesso em: 16 de junho 2012.

R CORE DEVELOPMENT TEAM. **R Foundation for Statistical Computing**. Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 26 de maio 2011.

SAZIMA, I. & BOKERMANN, W.C.A. Cinco novas espécies de *Leptodactylus* do centro e sudeste brasileiro (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 38(4), p. 899–912, 1978.

SEGALLA, M.V., CARAMASCHI, U., CRUZ, C.A.G., GARCIA, P.C.A., GRANT, T., HADDAD, C.F.B. & LANGONE, J. **Brazilian Amphibians, list of species**. Sociedade Brasileira de Herpetologia. Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br>>. Acesso em: 08 de junho 2012.

SHEPHERD, G.J. **Fitopac-Shell 1.6.4**: Manual do usuário. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 2006.

SUEUR, J., AUBIN, T. & SIMONIS, C. Seewave: a free modular tool for sound analysis and synthesis. **Bioacoustics**, 18, p. 213–226, 2008.

VASCONCELOS, E.G. & GIARETTA, A.A. A new species of *Hyla* (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil. **Revista Española de Herpetologia**, 17, p. 21–27, 2003.

WILKINSON, L. **SYSTAT 9**: The system for statistics. Evastron, IL: SYSTAT, Inc. 2000.

WYNN, A. & HEYER, W.R. Do geographically widespread species of tropical amphibians exist? An estimate of genetic relatedness within the neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (Schneider 1799) (Anura Leptodactylidae). **Tropical Zoology**, 14, p. 255–285, 2001.

ANEXO A - Artigo que descrevo com colaborador o canto de anúncio de *Leptodactylus labrosus*, uma das espécies do grupo de *L. fuscus* com canto desconhecido no início desse estudo.

Herpetology Notes, volume 4: 325-326 (2011) (published online on 20 October 2011)

Advertisement call of *Leptodactylus labrosus*
Jiménez de la Espada, 1875 (Anura, Leptodactylidae):
an unusual advertisement call within the *L. fuscus* group

Thiago de Carvalho^{1*} and Santiago Ron²

The *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) species group was first recognized by Heyer (1978), and it currently comprises 27 species distributed from southern North America (USA) to southern Argentina (Frost, 2011). Among those species, only three still have unpublished advertisement calls: (i) *L. tapiti* Sazima and Bokermann (1978) (description is ongoing, Rafael de Sá pers. comm.); (ii) *L. labrosus* Jiménez de la Espada (1875) and (iii) *L. ventrimaculatus* Boulenger (1902). The two latter species were described from Ecuador and may represent the most basal clade in the *L. fuscus* species group (Ponssa, 2008) restricted to the Pacific Coast, west of the Andes (Cisneros-Heredia, 2006a, b). Acoustic data on geographically restricted species are essential to comprehend advertisement call evolution of this species group and the genus *Leptodactylus*. Both species from Ecuador represent a case of geographical relictualism west of the Andes (Ponssa, 2008). Herein we describe the advertisement call of *L. labrosus* and compare it with known advertisement calls within the *L. fuscus* group.

Three specimens were recorded in Ecuador: 1) Rio Cuaque, Province of Manabí (0.014° S, 80.0738° W, 12 m above sea level); 2) 20 km west from El Carmen road to Pedernales, Province of Santo Domingo de los Tsáchilas (0.28118° S, 79.61756° W, 239 m above sea level); 3) 10 km north from Zapotillo, Province of Loja (4.31198° S, 80.21690° W, 231 m above sea level). Calls were recorded using either a Sony WM-D6C

tape recorder or a Sony MZ-NH1 digital recorder set at 44,100 Hz sample rate and 16 bits resolution coupled to a Sennheiser K6/ME67 directional microphone. Recordings are deposited at the audio collection of Museo de Zoología of Pontificia Universidad Católica del Ecuador (QCAZ). Sound analyses were carried out using Soundruler (v. 0.9.6.0) (Gridi-Papp, 2007); spectral trait of dominant frequency in the Audacity software (v. 1.3.13 Beta) (Audacity Team 2011); sound figures were obtained through Seewave (v. 1.5.9), R (v. 2.12.1) package (R Development Core Team, 2010). Settings for sound analyses and figures were Hanning window function with 85% overlap and 512 points resolution (FFT). We analyzed recordings from three males (N = 227 analyzed calls among three recorded specimens). Quantitative traits and sound figures of the putative aggressive call (*sensu* Wells, 2007) could not be generated as the call samples were very weak in sound intensity. Terminology of call traits essentially follows McLister, Stevens and Bogart (1995) and Duellman and Trueb (1994).

Males call buried in underground chambers in open areas adjacent to seasonal lentic water bodies. The advertisement call of *L. labrosus* (Figure 1) consists of a single very low-pitched note with very slight positive frequency modulation with pulses absent of barely defined (completely overlaid) emitted at a rate of 118–135 calls/minute (mean=127; SD=9). Call duration was 64–133 ms (mean=100; SD=26), with intercall interval 186–697 ms (mean=332; SD=37). Dominant frequency was 358–726 Hz (mean=451 Hz; SD=124).

In addition to the typical advertisement call, there is a second type of call in the recording from Zapotillo (7 call samples). Because two males call simultaneously in the recording (background vocalization of a second male), we suggest that these may be aggressive calls (*sensu* Wells, 2007). The second type of call is broadcasted either alone (one out of seven call samples) or in groups of 2 to 4 simultaneous calls. It has a pulsed structure with 2–8 well-defined pulses.

No other species of the *L. fuscus* group has been

¹ Laboratório de Taxonomia, Sistemática e Ecologia Comportamental de Anuros (Lissamphibia) Neotropicais. Faculdade de Ciências Integradas do Pontal (FACIP), Ituiutaba, Universidade Federal de Uberlândia.

Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP), Universidade de São Paulo; e-mail: thiago_decarvalho@yahoo.com.br

² Museo de Zoología, Escuela de Biología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Av. 12 de Octubre y Roca, Aptdo. 17-01-2184, Quito, Ecuador.

*Corresponding author.

Figure 1. Audiospectrogram (above) and corresponding oscillogram (below) of a sequence of two advertisement calls of *Leptodactylus labrosus* from Ecuador (Rio Cuaque, Province of Manabí). Record file (Santiago R. Ron): QCAZ-CC179; 8 Jan 2003.

reported to have calls with peaks of dominant frequency at less than 1 kHz. Among the species with advertisement calls with low frequency, *L. elenae* (Heyer, 1978), *L. fragilis* (Brocchi, 1877), *L. mystaceus* (Spix, 1824) and *L. didymus* (Heyer, García-Lopez and Cardoso, 1996), have the first part of their calls with frequency emphasized at lower than 1 kHz, yet they present a strong positive frequency modulation so the second half of the call has the frequency emphasized at over 1 kHz (see Marquez, De La Riva and Bosch, 1995; Heyer et al., 1996; Heyer and Heyer, 2002); the advertisement call of *L. caatingae* (Heyer and Juncá, 2003) has minimum dominant frequency ~0.95 kHz, and mean dominant frequency ~1.42 kHz, whereas in *L. labrosus* minimum dominant frequency is ~0.35 kHz, and mean dominant frequency is ~0.45 kHz. The advertisement call of *L. caatingae* also differs from that of *L. labrosus* by the presence of well-defined pulses (Heyer and Juncá, 2003; pulses are absent or ill-defined in *L. labrosus*). The advertisement call of *L. labrosus* presents a very slight positive frequency modulation so that the entire call has its frequency emphasized below 1 kHz (on average 0.45 kHz).

A proper understanding of the evolution of advertisement calls requires thorough taxon sampling (Ron, 2008). In this context, to study the acoustic evolution of calls of the *L. fuscus* group it is important to describe the advertisement calls of *L. ventrimaculatus* because the clade *L. labrosus*-*L. ventrimaculatus* appears to be the most basal lineage within the *L. fuscus* group (Ponssa, 2008). The phylogenetic position of *L. labrosus* seems to be consistent with the distinctive structure of its advertisement call relative to other members of the *L. fuscus* group.

Acknowledgements. We thank Ariovaldo A. Giaretta for critically reading the draft of this work.

References

- Audacity Team (2011): Audacity (version 1.3.13 Beta): Free Audio Editor and Recorder. Available from: <http://audacity.sourceforge.net> (accessed on 21 Jun 2011).
- Cisneros-Heredia, D.F. (2006a): Amphibians, Machalilla National Park, province of Manabí, Ecuador. Check List **2**(1): 45-54.
- Cisneros-Heredia, D.F. (2006b): Distribution and ecology of the western Ecuador frog *Leptodactylus labrosus* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). Zool. Res. **27**(3): 225-234.
- Duellman, W.E., Trueb, L. (1994): Biology of Amphibians. Baltimore, Maryland, The Johns Hopkins University Press.
- Frost, D.R. (2011): Amphibian Species of the World: an Online Reference, version 5.5. American Museum of Natural History, New York, USA. Available from: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/> (accessed on 6 February 2011).
- Gridi-Papp, M. (2007): Sound Ruler. V 0.9.6.0. Available from: <http://soundruler.sourceforge.net> (accessed on 13 January 2011).
- Heyer, W.R. (1978): Systematics of the fuscus group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Sci. Bul. Nat. Hist. Mus. Los Angeles County **29**: 1-85.
- Heyer, W.R., García-Lopez, J.M., Cardoso, A.J. (1996): Advertisement call variation in the *Leptodactylus mystaceus* (Amphibia: Leptodactylidae) species complex with a description of a new sibling species. Amph.-Rept. **17**: 7-31.
- Heyer, W.R., Heyer, M.M. (2002): *Leptodactylus elenae* Heyer. Cat. Am. Amph. Rept. **742**: 1-5.
- Heyer, W.R., Juncá, F.A. (2003): *Leptodactylus caatingae*, a new species of frog from eastern Brazil (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). P. Biol. Soc. Wash. **116**: 317-329.
- Marquez, R., De La Riva, I., Bosch, J. (1995): Advertisement calls of Bolivian Leptodactylidae (Amphibia, Anura). J. Zool. **237**: 313-336.
- McLister, J.D., Stevens, E.D., Bogart, J.P. (1995): Comparative contractile dynamics of calling and locomotor muscles in three hylid frogs. J. Exp. Biol. **198**: 1527-1538.
- Ponssa, M.L. (2008): Cladistic analysis and osteological descriptions of the frog species in the *Leptodactylus fuscus* species group (Anura, Leptodactylidae). J. Zool. Syst. Evol. Res. **46**: 249-266.
- R Development Core Team (2010): R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Available from: <http://www.R-project.org> (accessed on 5 February 2011).
- Ron, S.R. (2008): The evolution of female mate choice for complex calls in túngara frogs. Anim. Behav. **76**: 1783-1794.
- Sazima, I., Bokermann, W.C.A. (1978): Cinco novas espécies de *Leptodactylus* do centro e sudeste Brasileiro (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Rev. Bras. Biol. **38**: 899-912.
- Wells, K.D. (2007): The Ecology and Behavior of Amphibians. Chicago & London, University of Chicago Press.

ANEXO B - Artigo que descrevo com colaboradores *Bokermannohyla napolii* a partir de abordagem bioacústica, da mesma forma utilizada no presente estudo.

Zootaxa 3321: 37–55 (2012)
www.mapress.com/zootaxa/
Copyright © 2012 · Magnolia Press

Article

ISSN 1175-5326 (print edition)
ZOOTAXA
ISSN 1175-5334 (online edition)

A new species of the *Bokermannohyla circumdata* group (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil, with bioacoustic data on seven species of the genus

THIAGO RIBEIRO DE CARVALHO^{1,2,3}, ARIIVALDO ANTONIO GIARETTA¹ & LEANDRO MAGRINI^{1,2}

¹Laboratório de Taxonomia, Sistemática e Ecologia Comportamental de Anuros Neotropicais, Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Rua 20 n° 1.600 - Bairro Tupã, 38.304-402, Itututaba, MG, Brazil.

²Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Universidade de São Paulo, Departamento de Biologia/FFCLRP, Avenida dos Bandeirantes, 3900, 14040-901 Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

³Corresponding author: thiago_decarvalho@yahoo.com.br

Abstract

We describe a new species of the *Bokermannohyla circumdata* group from the Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro (EPDA-Galheiro) (19°12'S; 47°08'W), Municipality of Perdizes, State of Minas Gerais, a mid-altitudinal (≈ 850 m above sea level) riparian forest environment in the Cerrado of southeastern Brazil. *Bokermannohyla napolii* sp. nov. is allied to the large-sized species of the group, diagnosed on the basis of adult morphology/morphometrics, and mainly vocalizations. Adult specimens of the new species are most closely related to those of *B. luctuosa* and *B. circumdata*, but can be differentiated from the former by having distal subarticular tubercle of finger III bifid/divided in males, and finger IV bifid/divided in males and females; and from both *B. luctuosa* and *B. circumdata* by a distinctive advertisement call structure. We also provide bioacoustic data on seven other species of the genus, including previously unknown advertisement calls of *B. circumdata* and *B. carvalhoi*, and re-description of the advertisement calls of *B. luctuosa*, *B. ibitiguara*, *B. nanuzae*, *B. sazimai*, and *B. hylax*.

Key words: Advertisement call, *Bokermannohyla carvalhoi*, *Bokermannohyla circumdata* species group, *Bokermannohyla luctuosa*, *Bokermannohyla napolii* sp. nov., Cerrado, State of Minas Gerais

Resumo

Nós descrevemos uma nova espécie do grupo de *Bokermannohyla circumdata* proveniente da Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro (EPDA-Galheiro) (19°12'S; 47°08'O), município de Perdizes, estado de Minas Gerais, um ambiente ripário de altitude mediana (≈ 850 metros de altitude) no Cerrado do sudeste brasileiro. *Bokermannohyla napolii* sp. nov. está relacionada às espécies de grande porte do grupo, diagnosticada com base em morfologia e morfometria de espécimes adultos e principalmente vocalizações. Espécimes adultos da nova espécie são mais intimamente relacionados aos de *B. luctuosa* e *B. circumdata*, mas podem ser diferenciados daqueles por apresentarem o tubérculo subarticular distal do dedo III bifido/dividido nos machos, e do dedo IV bifido/dividido nos machos e nas fêmeas; e de ambas as espécies supracitadas por apresentar estrutura distinta no canto de anúncio. Além disso, o canto de anúncio da espécie nova apresenta um padrão distinto em comparação com os cantos de *B. luctuosa* e *B. circumdata*. Nós também apresentamos dados bioacústicos de sete espécies do gênero, incluindo cantos de anúncio desconhecidos previamente de *B. circumdata* e *B. carvalhoi*, e redescrição dos cantos de anúncio de *B. luctuosa*, *B. ibiguara*, *B. nanuzae*, *B. sazimai* e *B. hylax*.

Palavras-chave: *Bokermannohyla carvalhoi*, *Bokermannohyla luctuosa*, *Bokermannohyla napolii* sp. nov., canto de anúncio, Cerrado, estado de Minas Gerais, grupo de *Bokermannohyla circumdata*

Introduction

The genus *Bokermannohyla* was erected by Faivovich *et al.* (2005) and currently comprises 29 species distributed throughout the Atlantic Forest and Cerrado formations in Brazil. The monophyly of the genus is supported by molecular data, and a thorough morphological study is still required (Faivovich *et al.* 2009). This genus encompasses four phenetic species groups: the *B. circumdata* (Cope), *B. pseudopseudis* (Miranda-Ribeiro), *B. martinsi* (Bokermann), and *B. claresignata* (Lutz & Lutz).

The *Bokermannohyla circumdata* species group includes 18 species (Napoli & Pimenta 2009), sharing some or all of the following combination of traits: brown dorsal surfaces (in life and preserved), simple (not dichotomized) transverse stripes on posterior surfaces of thighs and flanks, single (not bifid) large and sharp prepollex, and adult males having hypertrophied forearms (Heyer 1985; Napoli & Juncá 2006; Napoli & Pimenta 2009). This group is also defined by 52 transformations in the mitochondrial and nuclear protein, and ribosomal genes (Faivovich *et al.* 2005). This group is generally restricted to altitudinal riparian environments within the Atlantic Forest and Cerrado domains (Napoli & Pimenta 2009).

During field surveys in a mid-altitudinal ($\approx$ 850 m above sea level) riparian environment in the Cerrado of southeastern Brazil (State of Minas Gerais), within the region known as Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba, we collected specimens and recorded calls of a *Bokermannohyla* of the *B. circumdata* group that we could not assign to any previously available name. Herein we recognize those specimens as belonging to an undescribed species on the basis of adult morphology, morphometrics, and mainly vocalizations.

So as to improve differential diagnosis and bioacoustic knowledge of the genus *Bokermannohyla*, we describe for the first time the advertisement calls of (i) *B. circumdata* from the southern sector of the Serra da Mantiqueira mountain range, State of Minas Gerais, as well as from the coastal Atlantic Forest in the State of São Paulo, and of (ii) *B. carvalhoi* (Peixoto 1981) from its type locality: at the Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Municipality of Teresópolis, State of Rio de Janeiro. In addition, we re-describe the advertisement calls of *B. ibitiguara* (Cardoso 1983) (currently assigned to the *B. pseudopseudis* species group according to Faivovich *et al.* 2005), *B. nanuzae* (Bokermann & Sazima 1973), *B. luctuosa* (Pombal & Haddad 1993), *B. hylax* (Heyer 1985), and *B. sazimai* (Cardoso & Andrade 1982) from either their type localities or closely adjacent localities.

Material and methods

Specimens, vocalizations, and data on habitat and natural history of the new species were gathered at the Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro (EPDA-Galheiro) (approximately 19°12'S; 47°08'W, 750–900 m above sea level, 2,840 ha), Municipality of Perdizes, State of Minas Gerais, southeastern Brazil. This reserve belongs to the Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG) and was established as a compensation effort after the construction of the Nova Ponte dam reservoir on the Araguari River.

Type specimens and additional examined specimens (Appendix 1) are housed in the following public Brazilian zoological collections: Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC), Campinas, State of São Paulo; Célio F. B. Haddad Collection (CFBH), Rio Claro, State of São Paulo; Collection of amphibians of the Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, State of Minas Gerais; and Collection of frogs of the Universidade Federal de Uberlândia (AAG-UFU), Uberlândia, State of Minas Gerais.

Twelve morphometric characters were taken from adult specimens with calipers to the nearest 0.1 mm. Seven measurements follow Duellman (1970): snout-vent length (SVL), head length (HL), head width (HW), eye diameter (ED), tympanum diameter (TD), shank length (SL) (= tibia length), and foot length (FL). Two measurements follow Heyer *et al.* (1990): thigh length (TL), and hand length (HAL). Three measurements follow Napoli (2005): eye-nostril distance (END), third finger disk diameter (FDD), and fourth toe disk diameter (TDD). Webbing formula notation follows Savage and Heyer (1997). Eggs were measured with calipers under a stereomicroscope.

Morphometric and bioacoustic data of related species were based on their original descriptions (Bokermann & Sazima 1973; Jim & Caramaschi 1979; Peixoto 1981; Cardoso 1983; Caramaschi & Feio 1990; Peixoto & Cruz 1992; Pombal & Haddad 1993; Caramaschi *et al.* 2001; Napoli & Pimenta 2003; Vasconcelos & Giaretta 2003; Napoli & Caramaschi 2004; Napoli 2005; Lugli & Haddad, 2006; Napoli & Juncá 2006; Napoli & Pimenta, 2009), as well as on Heyer *et al.* (1990).

Almost all analyzed advertisement calls were recorded with digital recorders (Marantz PMD-670, Marantz PMD-671, Boss BR 864, or M-audio Microtrack II) set at 44.1 or 48.0 kHz sample rate and 16 bits resolution, cou-

pled to directional microphones [Sennheiser K6/ME67 (Marantz and Boss) or K6/ME66 (Microtrack)]; calls of *B. luctuosa* were recorded with a Nagra E tape recorder (19 cm/s) coupled to a Sennheiser MKH816T microphone. Bioacoustic variables were analyzed with SoundRuler software version 0.9.6.0. (Gridi-Papp 2007); sound graphs were obtained with Seewave (version 1.6) (Sueur *et al.* 2008), R (version 2.13) package (R Development Core Team 2011). Seewave settings were Hanning window and 85% overlap. Call mechanics and terminology generally follow McLister *et al.* (1995) for comparative purposes of interespecific advertisement calls, and Duellman and Trueb (1994) for standard terms. Call categories (advertisement and aggressive calls) follow Wells (2007). Assignment of letters to the note types (A, B, and C) of the new species, *B. circumdata*, and *B. luctuosa* is the assumption of putative homology of those note types in all three species.

Vocalizations of *B. circumdata* was recorded in the Municipality of Chiador, State of Minas Gerais, Brazil, southern sector of the Serra da Mantiqueira mountain range, as well as in the District of Paranapiacaba (Municipality of Santo André), coastal Atlantic Forest in the State of São Paulo, Brazil; advertisement call of *B. luctuosa* was recorded at the Parque Estadual de Itapetinga, Municipality of Atibaia, State of São Paulo, Brazil, approximately 35 km in a straight line from its type locality (Serra do Japi mountain range, Municipality of Jundiá); advertisement call of *B. carvalhoi* was recorded at the Parque Nacional da Serra dos Órgãos (type locality), Municipality of Teresópolis, State of Rio de Janeiro, Brazil; vocalizations of *B. hylax* was recorded in the District of Paranapiacaba (Municipality of Santo André), State of São Paulo, Brazil, approximately 55 km in a straight line from its type locality (Estação Biológica de Boracéia, Municipality of Salesópolis); advertisement call of *B. nanuzae* was recorded at the Parque Nacional da Serra do Cipó (type locality), in the District of Serra do Cipó (Municipality of Santana do Riacho), State of Minas Gerais, Brazil; advertisement call of *B. ibitiguara* was recorded at the Parque Nacional da Serra da Canastra, Municipality of São Roque de Minas, and in the Municipality of Capitólio (Serra da Canastra mountain range), State of Minas Gerais, Brazil, approximately 60–70 km in a straight line from its type locality (Municipality of Alpinópolis); advertisement call of *B. sazimai* was recorded in the Municipality of Vargem Bonita (Serra da Canastra mountain range), State of Minas Gerais, Brazil, approximately 10 km in a straight line from its type locality (Municipality of São Roque de Minas). Some advertisement call variables of *B. circumdata* from the State of Minas Gerais could not be quantified or figured due to the low quality of the recording (improper for bioacoustic analysis or sound figures).

Voucher specimens of call recordings: *Bokermannohyla napolii* sp. nov.: AAG-UFU 4767 and AAG-UFU 0860; *B. ibitiguara*: AAG-UFU 4849–4852, AAG-UFU 0060–0061; *B. nanuzae*: AAG-UFU 0024–0025; *B. hylax*: AAG-UFU 0261; *B. carvalhoi*: AAG-UFU 4959–4960; *B. circumdata*: AAG-UFU 0260 and AAG-UFU 0668. Pictures presented in Figure 3 were slightly edited in order to remove flash shadows caused by camera.

Species account

Bokermannohyla napolii sp. nov.

Figures 1, 2(left), and 3

Holotype. UFMG 3333 (Ex-AAG-UFU 4767), adult male, collected at the Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro (EPDA-Galheiro; 19°12'S; 47°08'W, 845 m a.s.l.), Municipality of Perdizes, State of Minas Gerais, southeastern Brazil, on 16 October 2009, by A. A. Giaretta, T. R. de Carvalho, L. B. Martins, and B. F. V. Teixeira. Paratopotypes. Five adult males: AAG-UFU 4774–4775, UFMG 3334 (Ex-AAG-UFU 4770), and ZUEC 16610 (Ex-AAG-UFU 4771), collected with the holotype; AAG-UFU 0860, on 3 December 2011, by A. A. Giaretta. Three adult females: AAG-UFU 4773, UFMG 3335 (Ex-AAG-UFU 4769), ZUEC 16609 (Ex-AAG-UFU 4768), collected with the holotype.

Diagnosis. *Bokermannohyla* is currently supported only by molecular data, and a thorough morphological study of the genus still needs to be done (Faivovich *et al.* 2005, 2009). Thus, we assign *B. napolii* sp. nov. to this genus on the basis of its phenotypic similarity to other species in the genus. *Bokermannohyla napolii* sp. nov. is assigned to the *B. circumdata* species group as it has transverse dark brown stripes on dorsum, simple (not dichotomized or anastomosed) dark brown transverse stripes on posterior surfaces of thighs and flanks, single (not bifid) large sharp prepollex, and adult males having hypertrophied forearms. The new taxon is diagnosed by the following combination of traits: (1) medium size (adult SVL 49.7–55.0 mm); (2) head wider than longer; (3) dark brown transverse stripes on dorsum; (4) dark brown vertical bars on posterior and superior surfaces of thighs; (5) vocal

slits present in adult males; (6) bifid/divided distal tubercle of finger III in males, and bifid/divided distal tubercle of finger IV in males and females; (7) distinctive advertisement call pattern (see call description section).

TABLE 1. Morphometric characters (mm) of adult males of *Bokermannohyla luctuosa* (topotypes and specimens from the Municipalities of Cabreúva and Atibaia, State of São Paulo, Brazil); adult males of *B. circumdata* from the Municipalities of Petrópolis (State of Rio de Janeiro, Brazil), Arapeí and District of Paranapiacaba (State of São Paulo, Brazil), and Chiador (State of Minas Gerais, Brazil); and type series of *B. napolii* sp. nov. Mean $\pm$ standard deviation (minimum–maximum).

Characters	<i>Bokermannohyla luctuosa</i> N=7 males	<i>Bokermannohyla circumdata</i> N=10 males	<i>Bokermannohyla napolii</i> sp. nov.	
			N=6 males	N=3 females
Snout-Vent Length	56.3 $\pm$ 3.4 (53.4–61.9)	59.0 $\pm$ 3.4 (54.7–65.6)	53.1 $\pm$ 1.0 (52.5–55.0)	52.3 $\pm$ 2.2 (49.7–53.7)
Thigh Length	30.3 $\pm$ 1.7 (28.5–32.7)	31.9 $\pm$ 2.2 (28.7–36.3)	28.9 $\pm$ 0.5 (28.0–29.4)	28.3 $\pm$ 0.7 (27.7–29.0)
Shank Length	30.8 $\pm$ 1.7 (29.2–33.9)	32.5 $\pm$ 2.2 (29.2–36.6)	29.6 $\pm$ 0.6 (28.8–30.3)	28.8 $\pm$ 0.7 (28.1–29.4)
Foot Length	25.3 $\pm$ 1.8 (23.7–28.8)	26.8 $\pm$ 1.7 (23.2–29.3)	24.6 $\pm$ 0.8 (23.2–25.4)	23.7 $\pm$ 1.6 (21.8–24.8)
Hand Length	19.1 $\pm$ 1.2 (17.9–20.8)	20.3 $\pm$ 1.3 (18.3–22.5)	18.7 $\pm$ 0.7 (18.1–20.0)	17.1 $\pm$ 0.9 (16.1–17.8)
Head Length	20.1 $\pm$ 1.1 (19.0–22.0)	21.5 $\pm$ 1.3 (20.5–23.9)	19.3 $\pm$ 0.4 (18.8–19.9)	18.5 $\pm$ 0.7 (18.0–19.3)
Head Width	20.7 $\pm$ 1.1 (19.4–22.5)	22.1 $\pm$ 1.2 (20.9–24.2)	20.1 $\pm$ 0.6 (19.6–21.0)	18.9 $\pm$ 1.0 (18.0–19.9)
Eye Diameter	5.0 $\pm$ 0.2 (4.7–5.3)	5.3 $\pm$ 0.3 (4.8–5.9)	4.8 $\pm$ 0.1 (4.7–5.0)	4.5 $\pm$ 0.2 (4.3–4.6)
Tympanum Diameter	4.9 $\pm$ 0.4 (4.1–5.3)	5.1 $\pm$ 0.3 (4.6–5.3)	4.3 $\pm$ 0.3 (4.0–4.7)	4.2 $\pm$ 0.3 (3.9–4.5)
Eye-Nostril Distance	5.8 $\pm$ 0.3 (5.4–6.2)	6.2 $\pm$ 0.4 (5.6–6.7)	5.3 $\pm$ 0.1 (5.1–5.4)	5.1 $\pm$ 0.2 (5.0–5.3)
3 rd Finger Disk Diameter	2.9 $\pm$ 0.2 (2.7–3.3)	3.2 $\pm$ 0.3 (2.8–3.6)	3.1 $\pm$ 0.2 (2.7–3.3)	3.1 $\pm$ 0.2 (3.0–3.3)
4 th Toe Disk Diameter	2.8 $\pm$ 0.2 (2.6–3.1)	3.0 $\pm$ 0.3 (2.6–3.4)	2.8 $\pm$ 0.2 (2.5–3.1)	2.8 $\pm$ 0.2 (2.7–3.0)

TABLE 2. Advertisement call variables of *Bokermannohyla luctuosa* from the Municipality of Atibaia (State of São Paulo, Brazil); *B. circumdata* from the Municipality of Chiador (State of Minas Gerais, Brazil), and District of Paranapiacaba (State of São Paulo, Brazil); and *B. napolii* sp. nov. from the type locality. Mean $\pm$ standard deviation (minimum–maximum). N = number of recorded males.

Variables	<i>Bokermannohyla luctuosa</i> N=1	<i>Bokermannohyla circumdata</i> (MG) N=1	<i>Bokermannohyla circumdata</i> (SP) N=1	<i>Bokermannohyla napolii</i> sp. nov. N=6
Advertisement call duration (ms)	607.7 $\pm$ 48.2 (550–708)	—	—	619.7 $\pm$ 71.7 (460–807)
Note types A/B internote interval (ms)	110.8 $\pm$ 11.1 (97–138)	—	—	133.3 $\pm$ 17.2 (82–167)
Note type A duration (ms)	57.2 $\pm$ 20.3 (23–93)	95.0 $\pm$ 15.3 (71–120)	—	93.4 $\pm$ 15.6 (53–156)
Note type A dominant frequencies (kHz) / harmonics	0.57 $\pm$ 0.09 (0.49–0.65)	0.48 $\pm$ 0.12 (0.33–0.66) / 0.73 $\pm$ 0.05 (0.70–0.80)	—	0.43 $\pm$ 0.07 (0.39–0.56) / 0.77 $\pm$ 0.06 (0.73–0.90) / 1.47 $\pm$ 0.05 (1.34–1.51) / 1.82 $\pm$ 0.08 (1.68–1.85)
Advertisement call rate (calls/minute)	6.8 $\pm$ 2.4 (4–8)	—	11.1 $\pm$ 2.4 (8–14)	6.7 $\pm$ 4.6 (1–14)
Note type B duration (ms)	440.6 $\pm$ 46.6 (371–526)	778.0 $\pm$ 42.4 (748–808)	495.3 $\pm$ 55.8 (235–544)	399.5 $\pm$ 77.4 (242–550)
Note type B dominant frequencies (kHz) / harmonics	0.47 / 0.88 $\pm$ 0.04 (0.82–0.90) / 1.23 $\pm$ 0.06 (1.16–1.34) / 1.65 $\pm$ 0.04 (1.59–1.68) / 1.98 $\pm$ 0.09 (1.85–2.02)	0.47 $\pm$ 0.07 (0.42–0.52) / 0.89	0.54 $\pm$ 0.04 (0.52–0.61) / 1.05 $\pm$ 0.05 (0.98–1.08) / 1.46 $\pm$ 0.03 (1.45–1.55)	0.51 $\pm$ 0.06 (0.47–0.65) / 1.17 $\pm$ 0.14 (0.82–1.34) / 1.57 $\pm$ 0.07 (1.42–1.68) / 2.05 $\pm$ 0.04 (2.04–2.11)
Harmonic groups/note	12.2 $\pm$ 1.3 (10–15)	—	15.7 $\pm$ 1.6 (7–16)	2.5 $\pm$ 1.2 (1–5)

FIGURE 1. Adult specimens of *Bokermannohyla napoliti* sp. nov. in life. Specimens from the Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro (EPDA-Galheiro), Municipality of Perdizes, State of Minas Gerais, Brazil. Upper, holotype UFMG 3333; Lower, female paratopotype ZUEC 16609.

FIGURE 2. Ventral view of hands of adult male specimens of *Bokermannohyla napolii* sp. nov. (left: ZUEC 16610) and *B. luctuosa* (right: AAG-UFU 0473). The arrows point to the divided tubercles of fingers III and IV in *B. napolii* sp. nov.

Comparisons with other species. *Bokermannohyla napolii* sp. nov. (adult male SVL 52.5–55.0 mm; adult female SVL 49.7–53.7 mm) is set apart by its larger size from the small-sized (combined SVL 30.1–47.6 mm; cf. Napoli 2000) species of the *B. circumdata* group [*B. astartea* (Bokermann 1967), *B. feioi* (Napoli & Caramaschi 2004), *B. ibitipoca* (Caramaschi & Feio 1990), *B. izecksohni* (Jim & Caramaschi 1979), *B. nanuzae*, *B. ravida* (Caramaschi, Napoli & Bernardes 2001), and *B. sazimai*].

Bokermannohyla napolii sp. nov. has a wider than longer head, whereas the head in *B. ahenea* (Napoli & Caramaschi 2004), *B. capra* Napoli and Pimenta (2009), *B. feioi*, *B. hylax*, and *B. lucianae* (Napoli & Pimenta 2003) is longer than wider. The new species is also distinguished by having dark brown transverse stripes on dorsum and limbs, which are immaculate in *B. ahenea*, *B. astartea*, *B. carvalhoi*, and *B. gouveai* (Peixoto & Cruz 1992); immaculate or with weak dark brown transverse bands in *B. capra*, *B. diamantina* Napoli and Juncá (2006), *B. izecksohni*, and *B. lucianae*; and with a reticulated pattern in *B. sazimai*. Furthermore, the new taxon is distinguished by having dark brown vertical bars on posterior surface of thighs, which is immaculate in *B. feioi*, *B. gouveai*, *B. nanuzae*, and *B. lucianae*; fragmented in *B. carvalhoi*, and anastomosed in *B. vulcaniae* (Vasconcelos & Giaretta 2003). From *B. caramaschii* (Napoli 2005) and *B. izecksohni*, the new species is also distinguished by having vocal slits in adult males (absent in the other two species).

The distal bifid/divided subarticular tubercles of fingers III and IV in males, and finger IV in males and females (fig. 2) diagnose *B. napolii* sp. nov. from *B. ahenea*, *B. astartea*, *B. carvalhoi*, *B. feioi*, *B. gouveai*, *B. hylax*, *B. ibitipoca*, *B. izecksohni*, *B. luctuosa*, *B. nanuzae*, *B. sazimai*, and *B. vulcaniae*.

The advertisement call of *Bokermannohyla napolii* sp. nov. differs from that of all species of the *B. circumdata* group with calls described so far (unknown advertisement calls: *B. ahenea*, *B. caramaschii*, *B. gouveai*, *B. izecksohni*, *B. ravida*, and *B. vulcaniae*), except *B. circumdata* and *B. luctuosa*, due to its harmonic structure. The adver-

tisement call of the new species (figs. 6 A–B) most resembles the call pattern of *B. circumdata* (fig. 6 C) and *B. luctuosa* (fig. 6 D). Advertisement calls of *B. circumdata*, *B. luctuosa*, and *B. napolii* sp. nov. are composed of a short note followed by a long note. The first two have long notes composed of several disjunctive and/or juxtaposed harmonic groups, whereas the long note of *B. napolii* sp. nov. has fewer well-defined harmonic groups (1–5) with more sound intensity at the beginning of the note, or ill-defined harmonic groups with increasingly weaker sound intensity along its extent.

Description of holotype. Adult male (UFMG 3333; figs. 1, 2(left), and 3). Body robust; head wider than longer. Snout rounded in dorsal and lateral views (figs. 3 A–B, respectively); nostrils directed laterally, much closer to the tip of snout than to the eye; canthus rostralis distinct; loreal region slightly concave; tympanum circular, 83% of the eye diameter; supra-tympanic fold present; pupil horizontal; vocal sac single, subgular, expanded; vocal slits present; tongue round; vomerine teeth in two almost contiguous, slightly arched series between choanae. Crenulated ridge on outer surface of forearms; forearm hypertrophied; finger lengths when put together I<II<IV<III (fig. 3 C); disks of fingers II, III, and IV larger than that of I; disk of finger III 75% of the tympanum diameter; distal subarticular tubercles of fingers I and II ovoid, those of fingers III and IV bifid/divided; nuptial pads present; pollical tubercle large, elongated; prepollex well-developed, spine curved, completely covered by skin; inner metacarpal tubercle region formed by several smaller granular tubercles; palmar tubercle developed, elongated, divided; supernumerary tubercles present on the palm of hand; hand webbing formula I 2–3 II 2–2 2/3 III 2 1/2–2 IV. Toe lengths when put together I<II<V<III<IV (fig. 3 D); disks of toes III, IV, and V larger than those of I and II; disk of toe IV 68% of the tympanum diameter; toe webbing formula I 1–2 II 1–2 III 1–2* IV 2*–1 V; inner metatarsal tubercle ovoid, outer metatarsal tubercle barely distinct; toes fringed; supernumerary tubercles on the sole of foot; subarticular tubercles of toes rounded; inner tarsal fold weak, extending along full length of the tarsus; outer surface of tarsi. Dorsal surfaces and flanks smooth; belly granular; supra-vent granular ridge defined; discrete pointed dermal protuberance on outer heel present.

Measurements of holotype. Morphometric characters (mm) and ratios (%) in relation to SVL (52.5 mm): HL 19.2 (36.6), HW 19.6 (37.3), ED 4.8 (9.1), TD 4.0 (7.6), END 5.1 (9.7), TL 28.5 (54.3), SL 29.0 (55.2), FL 24.5 (46.7), HAL 18.6 (35.4), 3FD 3.0 (5.7), 4TD 2.7 (5.1).

Color of holotype in life (fig. 1). Dorsal surfaces uniformly pale cream, with subtly darker transverse stripes; a few white dots and blotches on dorsal surfaces and flanks; background color of the hidden parts of thighs and arms bluish and violet, with 8–9 dark brown vertical bars on posterior and superior surfaces; dorsal surface of shanks with 4–6 dark brown transverse stripes; flanks with subtle violet bars on a yellow marked region; inguinal region tending to the same color (violet) of the hidden parts of thighs, with a few dark brown transverse bars; supra-vent crenulated ridge white; crenulated ridge on outer forearm white; throat, chest, and belly light cream; iris gold, pupil black; tympanum tends to violet.

Color of holotype in preservative. Dorsum dark grayish brown with some faded parts on dorsum and limbs, and dark brown transverse stripes barely distinct on dorsum; a few white blotches scattered on dorsum, limbs, and flanks; hidden parts of thighs and arms light gray, their posterior and superior surfaces with 8–9 dark brown vertical bars; anterior surface of thighs immaculate; dorsal surface of shanks with 4–6 dark brown transverse stripes, sometimes fragmented; dark brown transverse stripes on dorsal surface of forearms indistinct; background color of flanks light gray, with a few dark brown reticulations, especially on inguinal region; supra-vent crenulated ridge white; crenulated ridge on outer forearm white; throat, chest, belly, and ventral surfaces of limbs cream, gular region with dark brown punctuations bordering lower jaw, region of tubercles and webbing of hands and feet slightly gray; tympanum brown, slightly lighter than dorsal coloration pattern.

Variation. Dorsum varies in color from medium brown (females) to dark gray (males) in ethanol preserved specimens. Number of dark brown vertical bars on dorsal surfaces of forearms (3–4), thighs (6–10), shanks (4–7), and tarsi (3–4). Dark brown transverse stripes on dorsal surfaces may be barely distinct. The male specimen AAG-UFU 0860 has no distinctive transverse stripes on dorsal surfaces. The presence and extent of white blotches on dorsum and limbs are variable, being completely absent in AAG-UFU 4775. Type series, except the holotype and AAG-UFU 0860, has a dark brown vertebral stripe, sometimes restricted to the first half of dorsal length. One female (AAG-UFU 4773) has distal subarticular tubercles of finger III divided; one male (AAG-UFU 4774) has distal subarticular tubercles fingers III and IV cordiform. Two male specimens (AAG-UFU 4775 and ZUEC 16610) have distal subarticular tubercles of finger I divided.

FIGURE 3. *Bokermannohyla napolii* sp. nov., holotype (UFMG 3333), adult male. Dorsal (A) and lateral (B) views of head; ventral view of hand (C) and foot (D). Scale bar = 10 mm.

Natural History. Despite extensive fieldworks since 2001, this species was only heard (found) in 2009, during an explosive breeding event. Afterwards, a few males were heard once at the end of 2011. Males started calling late at night (around 01:00 AM), and a few males were heard still calling at nearly midday on the next day. They gathered around a muddy slow-watered section of a stream at the forest border. Males ($N = 10$) were calling from the ground or perched on low (< 1 m high) vegetation. Egg clutches ($N = 4$; fig. 4) were laid 5–10 cm deep and hidden among dead broad leaves under water. Eggs were adhered to each other so that the entire egg mass (fresh, < 6 hours) could be removed from water using both hands to scoop it up. Number of eggs per clutch ranged from 373 to 742 (mean 637, $SD = 176$, $N = 4$ egg clutches); yolk diameter ranged from 1.2 to 2.3 mm (mean 1.8, $SD = 0.3$, $N = 3$ egg clutches); gelatinous capsules ranged from 3.8 to 5.4 mm (mean 4.4, $SD = 0.6$, $N = 4$ egg clutches). Three

collected females released ovocytes inside plastic bags: yolk diameter ranged from 1.5 to 2.2 (mean 2.0, SD = 0.6); gelatinous capsules ranged from 3.1 to 5.4 mm (mean 4.2, SD = 0.5). Some males had their backs scratched (fig. 1), probably as a result of agonistic interactions. The new species occurs sympatrically with *Bokermannohyla sazimai*, *Hypsiboas faber* (Wied-Neuwied), *Hypsiboas goianus* (Lutz), *Hypsiboas lundii* (Burmeister), and *Scinax canastrensis* (Cardoso & Haddad).

FIGURE 4. An egg clutch of *Bokermannohyla napolii* sp. nov. Eggs masses were laid hidden among dead broad leaves under water at the forest border. The egg clutch was exposed in order to take the picture. Clutches had an average of 637 eggs, each egg with a mean of 4.4 mm in diameter considering the gelatinous capsule.

Geographic distribution. *Bokermannohyla napolii* sp. nov. is known only from the type locality. (fig. 5).

Etymology. The name is a noun in the genitive case honoring Marcelo F. Napoli for his extensive contribution to the knowledge of the genus *Bokermannohyla*.

Vocalizations of *Bokermannohyla napolii* sp. nov. Six males recorded (N = 76 advertisement call samples; N = 43 aggressive call samples). Quantitative traits are summarized in Table 2. Advertisement call is composed of two note types (referred herein to as note types A and B; figs. 6 A-B) emitted consecutively at a rate of 1–14 calls/minute (mean 6.7, SD = 4.6). Additional notes B may eventually be emitted just after a typical A/B sequence though. Advertisement call duration (notes A + B) was 460–807 ms (mean 619.7, SD = 71.7). Note A is a short note (53–156 ms; mean 93.4, SD = 15.6) with 5–6 harmonics. Dominant frequencies from 0.39–0.56 kHz (mean 0.43, SD = 0.07), from 0.73–0.90 kHz (mean 0.77, SD = 0.06), from 1.34–1.51 kHz (mean 1.47, SD = 0.05), and from 1.68–1.85 kHz (mean 1.82, SD = 0.08), which correspond to the first four harmonics. Note B is a long note (242–550 ms; mean 399.5, SD = 77.4) with a harmonic structure (5–6 harmonics; sometimes ill-defined), and sound intensity concentrated the most on the first part of the note, and sound intensity modulations forming 1–5 disjunctive or juxtaposed harmonic groups (mean 2.5, SD = 1.2) along its extent, or with ill-defined harmonic structure (N = 8 note samples). A/B internote interval from 82–167 ms (mean 133.3, SD = 17.2). Dominant frequencies from 0.47–0.65 kHz (mean 0.51, SD = 0.06), from 0.82–1.34 kHz (mean 1.17, SD = 0.14), from 1.42–1.68 kHz (mean 1.57, SD = 0.07), and from 2.02–2.11 kHz (mean 2.05, SD = 0.04), which correspond to the first four harmonics.

FIGURE 5. Type localities (based on original descriptions) of medium and large-sized species of the *Bokermannohyla circumdata* species group on a topographic map: *B. napolii* sp. nov. (star); *B. vulcaniae* (1); *B. luctuosa* (2); *B. hylax* (3); *B. ahenea* (4); *B. gouveaei* (5); *B. carvalhoi* (6); *B. circumdata* (7)*; *B. caramaschii* (8); *B. diamantina* (9); and *B. capra* (10). *Based on Frost 2011.

We have also identified a third note type (referred herein to as note type C; fig. 7 A) that should possibly be attributed to a kind of aggressive call (*sensu* Wells 2007) because it has an ill-defined lower sound intensity structure with remarkable differences in temporal traits (longer duration) in comparison with note B, yet similar in spectral traits (dominant frequencies). Besides, this aggressive call has no distinguishable harmonic structure as in notes A and B of the advertisement call. Note C is emitted at a rate of 12–26 notes/minute (mean 20.0, SD = 5.7) alone or just after a note A. The emission rate of advertisement calls of a given male was inversely proportional to the emission rate of aggressive calls. Note C duration was 437–1,120 ms (mean 763.9, SD = 210.4) with A/C internote interval from 90–128 ms (mean 115.3, SD = 14.6). Despite the absence of well-defined harmonic structure, dominant frequencies coincided with those of note type A.

FIGURE 6. Audiospectrograms (above) and corresponding oscillograms (below) of the advertisement calls (note types A and B consecutively, when present) of: (A–B). A paratopotype of *Bokermannohyla napolii* sp. nov. from the EPDA-Galheiro (MG), Brazil. Record file: A. Bokerm_napoliiMG7aAAGm671; 01:50h, 3 December 2011; air 18.0°C, water 19.0°C; B. Record file: Bokerm_napoliiMG7bAAGm671; ca. 01:55h, 3 December 2011; air 18.0°C, water 19.0°C; (C). *Bokermannohyla circumdata* from Paranapiacaba (SP), Brazil. Record file: Bokerm_circumdSP1fAAGm; ca. 03:15h, 29 January 2011; air 22°C, water 21°C; (D). *Bokermannohyla luctuosa* from Atibaia (SP), Brazil. Record file: Bokerm_luctuosaAAG9; 01:00h, 4 December 1997; air 18.5°C, water 18.5°C. All figures generated at 512 points resolution (FFT).

Bioacoustic accounts on *Bokermannohyla* species

Bokermannohyla circumdata advertisement call (coastal Atlantic Forest, State of São Paulo). One male recorded ($N = 35$ advertisement call samples). Quantitative traits are summarized in Table 2. Advertisement call (fig. 6 C) consists of a single note composed of a harmonic structure (4–5 harmonics) with sound intensity modulations forming 7–16 disjunctive or juxtaposed harmonic groups (mean 13.7, $SD = 1.6$) along its extent. Advertisement call is emitted at a rate of 8–14 calls/minute (mean 11.1, $SD = 2.4$). Call duration was 235–544 ms (mean 495.3, $SD = 55.8$) with intercall interval from 1,580–7,320 ms (mean 4,120.0, $SD = 1,730.0$). Dominant frequencies from 0.52–0.61 kHz (mean 0.54, $SD = 0.04$), from 0.98–1.08 kHz (mean 1.05, $SD = 0.05$), and from 1.45–1.55 kHz (mean 1.46, $SD = 0.03$), which correspond to the first three harmonics.

The recorded male was calling alone from the ground next to a streamlet inside the forest.

Vocalizations of *Bokermannohyla circumdata* (Serra da Mantiqueira range, State of Minas Gerais). One male recorded ($N = 11$ aggressive call samples). Quantitative traits are summarized in Table 2. Advertisement call is composed of two note types (referred herein to as note types A and B). Note A is a short note (71–120 ms; mean 95.0, $SD = 15.3$) with 5–6 harmonics. Dominant frequencies from 0.33–0.66 kHz (mean 0.48, $SD = 0.12$), and from 0.70–0.80 kHz (mean 0.73, $SD = 0.05$), which correspond to the first two harmonics. Note B is a long note with a harmonic structure (5–6 harmonics), and sound intensity modulations forming several disjunctive or juxtaposed harmonic groups along its extent. Dominant frequencies from 0.42–0.52 kHz (mean 0.47, $SD = 0.07$), and at 0.89 kHz, which correspond to the first two harmonics.

We have also identified a third note type (referred herein to as note type C; fig. 7 B) that should possibly be attributed to a kind of aggressive call (*sensu* Wells 2007). The aggressive call consists of a single note composed of sound intensity modulations forming 18–26 disjunctive or juxtaposed groups (mean 20.4, $SD = 2.2$) along its

extent. Note C is emitted at a rate of 26–29 notes/minute (mean 27.5, SD = 1.3) just after a note A. Note duration was 656–893 ms (mean 728.6, SD = 63.5) with A/C internote interval from 88–157 ms (mean 99.7, SD = 19.4). Dominant frequency coincides with fundamental frequency, from 0.42–0.47 kHz (mean 0.46, SD = 0.02).

FIGURE 7. Audiospectrogram (above) and corresponding oscillogram (below) of a sequence of note type A followed by an aggressive call (note type C) of: (A). A topotype of *Bokermannohyla napolii* sp. nov. from the EPDA-Galheiro (MG), Brazil. Record file: Bokerm_napoliiMG1bAAGmt; ca. 01:00h, 16 October 2009; air 21.0°C, water 20.3°C; (B). *Bokermannohyla circumdata* from Chiador (MG), Brazil. Record file: Bokerm_circumdataChiadorMG1TRC_AAGmt; 01:28h, 3 December 2011; air 16.0°C, water 19.0°C. All figures generated at 512 points resolution (FFT).

FIGURE 8. Audiospectrogram (above) and corresponding oscillograms (below) of the advertisement call of: [A (typical two-note call) and B (three-note call)]. Two topotypes of *Bokermannohyla carvalhoi* from the Serra dos Órgãos (RJ), Brazil. A. Record file: Bokerm_carvalhoiSP3bLM_AAG3mt; 20:26h, 7 January 2011; air 20°C; B. Record file: Bokerm_carvalhoiSP1bLM_AAGmt; 21:21h, 6 January 2011; air 21°C, water 18°C; (C). *Bokermannohyla hylax* from Paranaipacaba (SP), Brazil. Record file: Bokerm_hylaxSP1bAAGm; 19:57h, 28 January 2011; air 25°C, water 20°C; [D (note types A and B consecutively)]. A topotype of *Bokermannohyla nanuzae* from the Serra do Cipó (MG), Brazil. Record file: Bokerm_nanuzaeMG2TRC_AAGmt; 04:04h, 22 November 2010; air 15°C, water 15°C. All figures generated at 256 points resolution (FFT).

The recorded male was calling alone perched on vegetation ($\approx$ 20 cm from the ground) on the margin of a puddle in a clearing approximately 3 m from the forest.

Bokermannohyla luctuosa advertisement call. One male recorded ($N = 19$ advertisement call samples). Quantitative traits are summarized in Table 2. Advertisement call is composed of two distinct types of notes (referred herein to as note types A and B) emitted consecutively (fig. 6 D); the emission of note B alone was observed a few times though. Advertisement call is emitted at a rate of 4–8 calls/minute (mean 6.8, SD = 2.4). Advertisement call duration was 550–708 ms (mean 607.7, SD = 48.2). Note A is a short note (23–93 ms; mean 57.2, SD = 20.3) with a harmonic structure (5–6 harmonics). Dominant frequency from 0.49–0.65 kHz (mean 0.57, SD = 0.09), which corresponds to the first two harmonics. Note B is a long note (371–526 ms; mean 440.6, SD = 46.6) with a harmonic structure (5–6 harmonics), and sound intensity modulations forming 10–15 disjunctive or juxtaposed harmonic groups (mean 12.2, SD = 1.3) along its extent. A/B internote interval from 97–138 ms (mean 110.8, SD = 11.1). Dominant frequencies at 0.47 kHz, from 0.82–0.90 kHz (mean 0.88, SD = 0.04), from 1.16–1.34 kHz (mean 1.23, SD = 0.06), from 1.59–1.68 kHz (mean 1.65, SD = 0.04), and from 1.85–2.02 kHz (mean 1.98, SD = 0.09), which correspond to the first five harmonics.

The recorded male was calling from the ground next to a streamlet outside, but near (< 20 m) the forest. Other males were heard calling inside the forest. Despite fifteen years of fieldworks in Atibaia, males were heard just once, when we witnessed an explosive reproductive event.

Bokermannohyla carvalhoi advertisement call. Three males recorded ($N = 93$ advertisement call samples). Quantitative traits are summarized in Table 3. Advertisement call (figs. 8 A–B) consists of a sequence of 1–3 similar multipulsed notes (mean 2.0, SD = 0.1) released at a rate of 13–32 notes/minute (mean 23.0, SD = 6.8). The last note tends to be more intense when in a sequence of two notes, and the middle note is the most intense when in a

sequence of three notes. Advertisement call duration was 260–536 ms (mean 315.3, SD = 12.4) with intercall interval from 621–4,667 ms (mean 2,192.9, SD = 581.8). Advertisement call is composed of 17–39 pulses (mean 27.7, SD = 1.0). Dominant frequency was 1.50–2.06 kHz (mean 1.74, SD = 0.12). Each note is composed of 7–22 pulses (mean 13.5, SD = 0.5) completely separated from each other, partially (medially) juxtaposed, or even completely juxtaposed. In addition, isolated pulses may appear at the beginning or at the end of the notes. Note duration was 64–147 ms (mean 98.3, SD = 6.4) with internote interval from 78–130 ms (mean 103.6, SD = 3.3).

TABLE 3. Advertisement call variables of *Bokermannohyla carvalhoi* from the Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Municipality of Teresópolis (State of Rio de Janeiro, Brazil); *B. hylax* from the District of Paranapiacaba (State of São Paulo, Brazil); *B. ibitiguara* from the Serra da Canastra mountain range, Municipalities of Capitólio and São Roque de Minas (State of Minas Gerais, Brazil); *B. sazimai* from the Serra da Canastra mountain range, Municipality of Vargem Bonita (State of Minas Gerais, Brazil); and *B. nanuzae* from the Parque Nacional da Serra do Cipó, Municipality of Santana do Riacho (State of Minas Gerais, Brazil). Mean $\pm$ standard deviation (minimum–maximum). N = number of recorded males.

Variables	<i>Bokermannohyla carvalhoi</i> N=3	<i>Bokermannohyla hylax</i> N=6	<i>Bokermannohyla ibitiguara</i> N=8	<i>Bokermannohyla sazimai</i> N=5	<i>Bokermannohyla nanuzae</i> N=2
Advertisement call duration (ms)	315.3 $\pm$ 12.4 (260–536)	522.1 $\pm$ 54.7 (361–686)	—	—	355.9 $\pm$ 28.8 (310–496)
Intercall interval (ms)	2,192.9 $\pm$ 581.8 (621–4,667)	2,393.2 $\pm$ 1,211.4 (452–5,152)	—	—	1,249.3 $\pm$ 1,039.2 (309–3,653)
Note duration (ms)	Note 98.3 $\pm$ 6.4	—	855.1 $\pm$ 134.3 (435–1,208)	656.7 $\pm$ 97.8 (476–892)	149.3 $\pm$ 21.7 (95–229)
	type A (64–147)	—	70.1 $\pm$ 13.8 (37–104)	100.9 $\pm$ 28.6 (80–165)	132.5 $\pm$ 1.2 (111–185)
	type B	—	—	—	—
Internote interval (ms)	Note 103.6 $\pm$ 3.3	—	1,229.2 $\pm$ 518.7 (91–3,575)	633.7 $\pm$ 320.7 (303–2,109)	—
	type A (78–130)	—	128.3 $\pm$ 20.4 (77–171)	175.2 $\pm$ 20.0 (124–199)	—
	type B	—	—	—	—
A/B internote interval (ms)	—	—	—	—	74.6 $\pm$ 6.8 (32–151)
Dominant frequency (kHz)	Note 1.74 $\pm$ 0.12 (1.50–2.06)	2.00 $\pm$ 0.18 (1.50–2.44)	2.01 $\pm$ 0.21 (1.50–2.20)	2.47 $\pm$ 0.09 (2.24–2.58)	2.47 $\pm$ 0.06 (2.25–2.63)
	type A	—	1.99 $\pm$ 0.25 (1.50–2.20)	2.45 $\pm$ 0.12 (2.24–2.58)	2.47 $\pm$ 0.06 (2.25–2.63)
	type B	—	—	—	—
Advertisement call rate (calls/minute)	Note 23.0 $\pm$ 6.8	17.5 $\pm$ 4.4	21.0 $\pm$ 12.8 (10–52)	35.6 $\pm$ 16.0 (17–68)	37.0 $\pm$ 28.3 (17–57)
	type A (13–32)	(14–26)	19.0 $\pm$ 7.2 (5–29)	31.9 $\pm$ 15.7 (6–54)	—
	type B	—	—	—	—
Pulses/note	Note 13.5 $\pm$ 0.5	—	64.9 $\pm$ 14.5 (39–92)	26.7 $\pm$ 4.6 (13–36)	10.0 $\pm$ 0.4 (5–17)
	type A (7–22)	—	—	—	24.6 $\pm$ 1.1 (19–28)
	type B	—	—	—	—
Pulse groups/note	Note —	—	13.0 $\pm$ 1.2 (7–17)	7.2 $\pm$ 0.9 (5–9)	—
	type A	—	—	—	—
	type B	—	—	—	—

Males were calling perched on vegetation next to a streamlet inside the forest.

Vocalizations of *Bokermannohyla hylax*. Six males recorded (N = 91 advertisement call samples; N = 30 call type B samples). Quantitative traits are summarized in Table 3. Advertisement call (fig. 8 C) consists of a single note (herein referred to as call type A) with multipulsed structure, released at a rate of 14–26 calls/minute (mean 17.5, SD = 4.4). Pulses are arranged in well-defined pulse groups, especially in the first half of the calls. Call duration was 361–686 ms (mean 522.1, SD = 54.7) with intercall interval from 452–5,152 ms (mean 2,393.2, SD = 1,211.4). Dominant frequency was 1.50–2.44 kHz (mean 2.00, SD = 0.18). During the emission of typical advertisement calls (calls A), males may emit long sequences (≤ 16 consecutive calls) of longer calls (herein referred to

as call type B (fig. 9 A) with lower intercall interval and ill-defined or absent pulse groups. Call type B duration was 506–922 ms (mean 754.3, SD = 75.6) with intercall interval from 116–575 ms (mean 270.3, SD = 205.0). Dominant frequency was 1.88–2.25 kHz (mean 2.00, SD = 0.17). Other two types of calls were recorded: call type C (fig. 9 B) is similar to the advertisement call in both temporal and spectral traits (especially in the first part of the call), but the last half of the call is distinguished by presenting nearly or completely juxtaposed pulses. Call type C is released once (N = 10 call samples) or in a sequence of two calls (N = 1 call sample) among typical advertisement calls (call type A). Call C duration was 383–572 ms (mean 495.7, SD = 63.7); dominant frequency was 1.69–2.25 kHz (mean 2.00, SD = 0.23). Call type D (fig. 9 C) was only recorded twice, being a low intensity emission (when compared to call types A, B, and C) with juxtaposed pulses. Call D duration was 425–457 ms (mean 440.9, SD = 22.1); dominant frequency peaked at 2.06 kHz.

FIGURE 9. Audiospectrogram (above) and corresponding oscillograms (below) of: (A). Note type B of *Bokermannohyla hylax* from Paranapiacaba (SP), Brazil. Record file: Bokerm_hylaxSP3bAAGm; 22:35h, 28 January 2011; air 23°C, water 21°C; (B). Note type C of *Bokermannohyla hylax* from Paranapiacaba (SP), Brazil. Record file: Bokerm_hylaxSP1bAAGm; 19:57h, 28 January 2011; air 25°C, water 20°C; (C). Note type D of *Bokermannohyla hylax* from Paranapiacaba (SP), Brazil. Record file: Bokerm_hylaxSP5aAAGm; 19:57h, 28 January 2011; air 25°C, water 20°C; (D). Longer call of a toptype of *Bokermannohyla nanuzae* from the Serra do Cipó (MG), Brazil. Record file: Bokerm_nanuzaeMG1bTRC_AAGmt; 18:53h, 19 November 2010; air 15°C, water 19°C. All figures generated at 256 points resolution (FFT).

Males were calling from the ground or associated to bromeliads at up to approximately 6 m in height next to streamlets inside the forest.

Bokermannohyla nanuzae advertisement call. Two males recorded (N = 72 call samples). Quantitative traits are summarized in Table 3. Advertisement call (fig. 8 D) consists of the emission of two types of multipulsed notes (herein referred to as notes A and B) consecutively at a rate of 17–57 calls/minute (mean 37.0, SD = 28.3). Advertisement call duration was 310–496 ms (mean 355.9, SD = 28.8) with intercall interval from 309–3,653 ms (mean 1,249.3, SD = 1,039.2). Dominant frequency (both notes A and B) was 2.25–2.63 kHz (mean 2.47, SD = 0.06). Note A duration was 95–229 ms (mean 149.3, SD = 21.7) and each note is composed of 5–17 pulses (mean 10.0, SD = 0.4) arranged in a single group or irregularly arranged along its extent. Note B duration was 111–185 ms (mean 132.5; SD=1.2) and each note is composed of 19–28 juxtaposed pulses (mean 24.6, SD = 1.1) with descendent sound intensity modulation along its extent, yet isolated pulses may appear at the beginning (1–3) or at the end (1) of notes. Internote interval (A/B) was 32–151 ms (mean 74.6, SD = 6.8). One specimen released 14 calls pre-

senting longer note types A and B, whose pulses have a non-stopping sequence (no internote interval) between notes A/B (fig. 9 D). These calls may present less sound intensity compared to that of typical advertisement calls. Call duration was 501–719 ms (mean 599.7, SD = 73.8). Each call is composed of 46–60 (mean 53.4, SD = 5.3) pulses arranged in a single group or irregularly arranged with isolated pulses along its extent. Dominant frequency was 2.44–2.63 kHz (mean 2.55, SD = 0.10).

FIGURE 10. Audiospectrogram (above) and corresponding oscillogram (below) of: **(A).** Note type A of the advertisement call of *Bokermannohyla ibitiguara* from Capitólio (MG), Brazil. Record file: Bokerm_ibitiguaraMG1bTRC_AAGmt; 19:20h, 18 December 2009; air 24.4°C, water 23.3°C; **(B).** A sequence of ten notes type B of the advertisement call of *Bokermannohyla ibitiguara* from Capitólio (MG), Brazil. Record file: Bokerm_ibitiguaraMG3bTRC_AAGmt; 20:26h, 18 December 2009; air 24.4°C, water 23.3°C; **(C).** Note type A of the advertisement call of *Bokermannohyla sazimai* from Vargem Bonita (MG), Brazil. Record file: Bokerm_sazimaiMG1TRC_AAGmt; 23:04h, 17 December 2009; air 19°C, water 21°C; **(D).** A sequence of ten notes type B of the advertisement call of *Bokermannohyla sazimai* from Vargem Bonita (MG), Brazil. Record file: Bokerm_sazimaiMG2bTRC_AAGmt; 23:13h, 17 December 2009; air 19°C, water 21°C. All figures generated at 256 points resolution (FFT).

Males were calling perched on vegetation (≈ 1.5 m from the ground) next to rocky bottom streamlets at the border or inside the forest.

Bokermannohyla ibitiguara advertisement call. Eight males recorded ($N = 200$ note type A samples; $N = 303$ note type B samples). Quantitative traits are summarized in Table 3. Advertisement call composed of two types of notes (herein referred to as note types A and B). Note type A (fig. 10 A) consists of a single multipulsed structure with 7–17 pulse groups/note (mean 13.0, SD = 1.2), and with 39–92 pulses/note (mean 64.9, SD = 14.5) that may be separated from each other, medially juxtaposed, or even completely juxtaposed (especially the initial and final pulse groups) released at a rate of 10–52 notes/minute (mean 21.0, SD = 12.8). Note duration was 435–1,208 ms (mean 855.1, SD = 134.3) with internote interval from 91–3,575 ms (mean 1,229.2, SD = 518.7). Dominant frequency was 1.50–2.20 kHz (mean 2.01, SD = 0.21). Note type B (fig. 10 B) consists of a multipulsed structure released at a rate of 5–29 notes/minute (mean 19.0, SD = 7.2) in sequences of 5–10 notes/sequence (mean 7.1, SD = 0.5) emitted at a rate of 1–5 note sequences/minute (mean 2.6, SD = 1.1). Note composed of pulses usually juxtaposed, but initial isolated pulses may also be present. Note duration was 37–104 ms (mean 70.1, SD = 13.8) with internote interval from 77–171 ms (mean 128.3, SD = 20.4), and note sequence duration was 780–2,182 ms (mean 1,371.1, SD = 312.4). Dominant frequency was 1.50–2.20 kHz (mean 1.99, SD = 0.25). Note B may be emitted overlapping the beginning or middle of the emission of a note A ($N = 20$).

Males were calling from the ground in rock cavities or perched on vegetation (approximately 1–2 m from the ground) next to rocky bottom streamlets at the border or inside the forest.

Bokermannohyla sazimai advertisement call. Five males recorded ($N = 74$ note type A samples; $N = 221$ note type B samples). Quantitative traits are summarized in Table 3. Advertisement call composed of two types of note (herein referred to as note types A and B). Note type A (fig. 10 C) consists of a single multipulsed structure emitted at a rate of 17–68 notes/minute (mean 35.6, SD = 16.0). Note duration was 476–892 ms (mean 656.7, SD = 97.8) with internote interval from 303–2,109 ms (mean 633.7, SD = 320.7). Dominant frequency was 2.24–2.58 kHz (mean 2.47, SD = 0.09). Each note composed of 13–36 pulses (mean 26.7, SD = 4.6) with duration from 5–8 ms (mean 6.3, SD = 0.5), and interpulse interval from 5–21 ms (mean 11.5, SD = 3.2). Pulses arranged in well-defined groups. Each note composed of 5–9 pulse groups (mean 7.2, SD = 0.9). Pulse group duration was 21–95 ms (mean 48.2, SD = 14.3), and interpulse group interval was 14–68 ms (mean 47.5, SD = 8.7). Note type B (recorded from four specimens) (fig. 10 D) consists of a multipulsed structure with initial isolated pulses (the presence and number of single pulses at the beginning of each note are variable within each call) followed by several juxtaposed pulses. Note type B is released in sequences of 6–15 notes/sequence (mean 10.1, SD = 2.1) at a rate of 6–54 notes/minute (mean 31.9, SD = 15.7). Duration of each note was 80–165 ms (mean 100.9, SD = 28.6) with internote interval from 124–199 ms (mean 175.2, SD = 20.0). Note sequences are emitted at a rate of 1–5 note sequences/minute (mean 3.1, SD = 1.0). Duration of note sequence was 1,573–3,933 ms (mean 2,654, SD = 552.6). Dominant frequency was 2.24–2.58 kHz (mean 2.45, SD = 0.12). Note B may be emitted overlapping the beginning or middle of the emission of a note A ($N = 10$).

Males were calling perched on vegetation (approximately 1–2 m from the ground) next to streamlets at the border or inside the forest.

Additional remarks. The Estação de Desenvolvimento e Pesquisa ambiental Galheiro (EDPA-Galheiro) is geographically separated and ecologically isolated from the altitudinal environments within the Atlantic Forest domain (see Napoli 2005). *Bokermannohyla napolii* sp. nov. is known only from the aforementioned mid-altitudinal riparian environment in the Cerrado of southeastern Brazil, whereas its allied species (*B. caramaschii*, *B. circumdata*, and *B. luctuosa*) inhabit altitudinal environments (Serra do Mar and Serra da Mantiqueira mountain ranges) within the Atlantic Forest domain of southeastern, southern, and northeastern Brazil (Napoli 2005; Napoli *et al.* 2011). It may also be worth stating that specimens assigned to *B. circumdata* from the Serra do Espinhaço and Serra da Canastra mountain ranges (Appendix 1) require a more thorough evaluation so as to clarify their taxonomic status. However, it might also require bioacoustic data in addition to only taking a morphological approach into account, which could even reveal other cryptic species under the name *B. circumdata* among populations distributed along altitudinal riparian environments in the Cerrado of southeastern Brazil.

Recordings of *B. circumdata* from coastal Atlantic Forest in the State of São Paulo (Paranapiacaba) had only one type of note, regarded as homologous to note type B of *B. napolii* sp. nov., *B. luctuosa*, and *B. circumdata* from the southern sector of the Serra da Mantiqueira mountain range, State of Minas Gerais. We can assume that the emission of note types A and C should possibly be regulated by social context, since one of the two populations of *B. circumdata* emitted all three note types, whereas the other population only emitted one type of note.

In the original description of *Bokermannohyla ibitiguara*, Cardoso (1983) presented two distinct note types as being its advertisement call, whose audiospectrogram is difficult to interpret as the author did not exactly specify those two distinct notes. The notes named as “long notes” should probably correspond to note type A of our description. Accordingly, those notes called “short notes” should probably correspond to note type B of our description. In this context, temporal variables of *B. ibitiguara* calls presented in Cardoso (1983) and later used in Lugli and Haddad (2006) were not in accordance with our data, especially the duration of the two distinct notes. It probably seems that these variables were not measured in the same manner so that the range of values was quite different from the results obtained in our analysis. Differences in the technology available for each analysis, as well as weather and intraspecific variation might also be regarded as potential sources of variation in the results obtained.

In the original description of *Bokermannohyla sazimai*, Cardoso and Andrade (1982) presented two distinct types of notes composing its advertisement call. The first five notes in their fig. 6A were named as “multipulsed notes”, and correspond to our note type B; the remaining note of their fig. 6A and the sequence of two notes in their fig. 6B were named as “non-pulsed notes”, and correspond to our note type A.

Bokermann and Sazima (1973) defined the advertisement call of *Bokermannohyla nanuzae* as having from two to four irregularly separated notes. We believe they considered the emission of two advertisement calls consecutively (4 notes) as the advertisement call, inasmuch as we only analyzed advertisement calls with two notes. Those

authors also described the presence of frequency bands (three), whereas we could only observe two bands of emphasized frequency, the dominant frequency and sometimes the fundamental frequency (more than 1 kHz).

Acknowledgements

Financial support by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), and Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG). Grants by CNPq (AAG) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (LM and TRC). We especially thank the following curators and their respective institutions for allowing us to examine specimens under their care: Paulo C. A. Garcia (UFMG), Célio F. B. Haddad (CFBH), Luís F. Toledo (ZUEC). We thank the directors of the EPDA-Galheiro and CEMIG for field facilities. We thank Kátia G. Facure, Marcelo N. de C. Kokubum, Bernardo F. V. Teixeira and Lucas B. Martins for helping during some of the field-trips. Special thanks go to Marcelo F. Napoli and an anonymous reviewer for making helpful comments and suggestions on the manuscript, and John David Bagnall for reading critically the English version of the manuscript. Collection permits: IBAMA 02015.008064/02–51 and IBAMA 24954–2.

References

- Bokermann, W.C.A. & Sazima, I. (1973) Anfíbios da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. 1 – Espécies novas de *Hyla* (Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 33, 329–336.
- Caramaschi, U. & Feio, R.N. (1990) A new species of *Hyla* (Anura, Hylidae) from southern Minas Gerais, Brazil. *Copeia*, 1990(2), 542–546.
- Caramaschi, U., Napoli, M.F. & Bernardes, A.T. (2001) Nova espécie do grupo de *Hyla circumdata* (Cope, 1870) do Estado de Minas Gerais, Brasil (Amphibia, Anura, Hylidae). *Boletim do Museu Nacional, N. S., Zoologia, Rio de Janeiro*, 457, 1–11.
- Cardoso, A.J. (1983) Descrição e biologia de uma nova espécie de *Hyla* Laurenti, 1768 (Amphibia, Anura, Hylidae). *Iheringia, Série Zoologia*, 62, 37–45.
- Cardoso, A.J. & Andrade, G.V. (1982) Nova espécie de *Hyla* do Parque Nacional da Serra da Canastra (Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 42, 589–593.
- Duellman, W.E. (1970) *The hyliid frogs of Middle America*. Monographs of the Museum of Natural History, the University of Kansas, Lawrence, 473 pp.
- Duellman, W.E. & Trueb, L. (1994) *Biology of Amphibians*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, 670 pp.
- 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 Natural History*, 294, 1–240.
- Faivovich, J., Lugli, L., Lourenço, A.C.C. & Haddad, C.F.B. (2009) A new species of the *Bokermannohyla martinsi* group from central Bahia, Brazil with comments on *Bokermannohyla* (Anura: Hylidae). *Herpetologica*, 65, 303–310.
- Frost, D.R. (2011) *Amphibian Species of the World: an Online Reference*, v. 5.5. American Museum of Natural History, New York, USA. Available from: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/> (accessed on 26 May 2011).
- Griddi-Papp, M. (2007) Sound Ruler. Version 0.9.6.0. Available from <http://soundruler.sourceforge.net> (accessed 28 August 2010).
- Heyer, W.R. (1985) New species of frogs from Boracéia, São Paulo, Brazil. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 98, 657–671.
- Heyer, W.R., Rand, A.S., Cruz, C.A.G., Peixoto, O.L. & Nelson, C.E. (1990) Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia*, 31, 235–410.
- Jim, J. & Caramaschi, U. (1979) Uma nova espécie de *Hyla* da região de Botucatu, São Paulo, Brasil (Amphibia, Anura). *Revista Brasileira de Biologia*, 39, 717–719.
- Lugli, L. & Haddad, C.F.B. (2006) A new species of the *Bokermannohyla pseudopseudis* group from central Bahia, Brazil (Anura, Hylidae). *Herpetologica*, 62, 453–465.
- McLister, J.D., Stevens, E.D. & Bogart, J.P. (1995). Comparative contractile dynamics of calling and locomotor muscles in three hylid frogs. *The Journal of Experimental Biology*, 198, 1527–1538.
- Napoli, M.F. (2000) Taxonomia, variação morfológica e distribuição geográfica das espécies do grupo de *Hyla circumdata* (Cope, 1870) (Amphibia, Anura, Hylidae). Doctoral thesis, unpublished. Universidade Federal do Rio de Janeiro/Museu Nacional, Rio de Janeiro, 208pp. Available from http://www.amphibia.ufba.br/Public/Tese_MFNapoli.htm (accessed on 14 November 2011).
- Napoli, M.F. (2005) A new species allied to *Hyla circumdata* (Anura: Hylidae) from Serra da Mantiqueira, southeastern Brazil. *Herpetologica*, 61, 63–69.

- Napoli, M.F. & Caramaschi, U. (2004) Two new species of the *Hyla circumdata* group from Serra do Mar and Serra da Mantiqueira, Southeastern Brazil, with description of the advertisement call of *Hyla ibitipoca* (Anura, Hylidae). *Copeia*, 2004(3), 534–545.
- Napoli, M.F., Encarnação, L., Cunha, M., Abreu, F. & Herrera, J. (2011) Paradoxical geographic distributions, new record, and corrections of *Bokermannohyla circumdata* (Cope, 1870) and *B. caramaschii* (Napoli, 2005) (Amphibia: Anura: Hylidae). *Herpetology Notes*, 4, 105–109.
- Napoli, M.F. & Juncá, F.A. (2006) A new species of the *Bokermannohyla circumdata* group (Amphibia: Anura: Hylidae) from Chapada Diamantina, State of Bahia, Brazil. *Zootaxa*, 1244, 57–68.
- Napoli, M.F. & Pimenta, B.V.S. (2003) Nova espécie do grupo de *Hyla circumdata* (Cope, 1870) do sul da Bahia, Brasil (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 61, 189–194.
- Napoli, M.F. & Pimenta, B.V.S. (2009) A new species of the *Bokermannohyla circumdata* group (Anura: Hylidae) from the coastal forests of Bahia, northeastern Brazil. *Copeia*, 2009(4), 674–683.
- Peixoto, O.L. (1981) Nova espécie de *Hyla* da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil (Amphibia, Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 41, 515–520.
- Peixoto, O.L. & Cruz, C.A.G. (1992) Nova espécie de *Hyla* da Serra da Mantiqueira, Itatiaia, estado do Rio de Janeiro (Amphibia, Anura, Hylidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, 197–200.
- Pombal, J.P. & Haddad, C.F.B. (1993) *Hyla luctuosa*, a new treefrog from southeastern Brazil (Amphibia: Hylidae). *Herpetologica*, 49, 16–21.
- R Development Core Team (2011) *R Foundation for Statistical Computing*. Vienna, Austria. Available from <http://www.R-project.org> (accessed 26 May 2011).
- Savage, J.M. & Heyer, W.R. (1997) Digital webbing formulae for anurans: a refinement. *Herpetological Review*, 28, 131.
- Sueur, J., Aubin, T. & Simonis, C. (2008) Seewave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, 18, 213–226.
- Vasconcelos, E.G. & Giarretta, A.A. (2003) A new species of *Hyla* (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil. *Revista Española de Herpetología*, 17, 21–27.
- Wells, K.D. (2007) Anuran vocal communication. In: Wells, K.D. (Eds.), *The Ecology and Behavior of Amphibians*. University of Chicago Press, Chicago & London, pp. 268–337.

Appendix 1: Additional examined specimens

See also Appendix 1 in Vasconcelos and Giarretta (2003) for a list of additional examined species.

Bokermannohyla ahenea – BRAZIL: SÃO PAULO: São José do Barreiro (CFBH 21953); *Bokermannohyla astartea* – BRAZIL: SÃO PAULO: Salesópolis (ZUEC 6401); *Bokermannohyla caramaschii* – BRAZIL: ESPÍRITO SANTO: Alegre (CFBH 25137); Domingos Martins (CFBH 10843, 22845); Santa Teresa (topotypes: CFBH 15004–05); Vargem Alta (CFBH 25088, 25581, 25583); *Bokermannohyla carvalhoi* – BRAZIL: RIO DE JANEIRO: Teresópolis (topotypes: CFBH 22010–22011, 24775); *Bokermannohyla circumdata* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Chiador (AAG-UFU 0668–0670); RIO DE JANEIRO: Petrópolis (CFBH 13949–13950; 10121); Trajano de Moraes (AAG-UFU 0523); SÃO PAULO: Araçá (ZUEC 6494, 6970–6972, 6980); Paranaíba (ZUEC 4495–96); São Luís do Paraitinga (CFBH 10776, 13783, 13788, 14651–14652, 14654, 14657–14658, 14784–14786); Serra da Bocaina (ZUEC 2027); *Bokermannohyla cf. circumdata* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Congonhas (UFMG 5125, 5155); Juatuba (AAG-UFU 0326); São Gotardo (AAG-UFU 0369, 1019); São Roque de Minas (MZUFV 9944, 9946); *Bokermannohyla clepsydra* – BRAZIL: SÃO PAULO: Serra da Bocaina (topotype: ZUEC 15937); *Bokermannohyla feioi* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Ibitipoca (topotype: ZUEC 16123); Lima Duarte (topotypes: ZUEC 7156–7157); *Bokermannohyla gouveai* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Itamonte (CFBH 10126, 16677–16680, 16690–16691); *Bokermannohyla hylax* – BRAZIL: SÃO PAULO: Iguapé (ZUEC 9162–9163); Salesópolis (ZUEC 6421); Santo André (ZUEC 6467, 6513, 7043, 8422, 10930); *Bokermannohyla ibitiguara* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Capitólio (AAG-UFU 4849–4852); São Roque de Minas (AAG-UFU 0060–0062, AAG-UFU 0586); *Bokermannohyla ibitipoca* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Ibitipoca (topotypes: ZUEC 16120–16122, 16124–16125); Lima Duarte (paratopotypes: ZUEC 6823–6824); *Bokermannohyla izecksohni* – BRAZIL: SÃO PAULO: Cotia (CFBH 16653–16654); *Bokermannohyla luctuosa* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Camanducaia (CFBH 4961, 7465, 7467, 1239–1241, 11244, 11246–47, 17563–17564, 17566, 17583, 17585–17591); SÃO PAULO: Atibaia (AAG-UFU 0470–0473); Cabreúva (paratype: ZUEC 5949); Campos do Jordão (ZUEC 6938, 9793); Jundiá (topotypes: ZUEC 4540, 4543–4544; paratopotypes: ZUEC 9161, 9171; holotype: ZUEC 9159); Ribeirão Branco (ZUEC 7030); Santo Antônio do Pinhal (CFBH 7309); *Bokermannohyla nanuzae* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Jaboticatubas (topotypes: AAG-UFU 0024–0025; paratopotypes: WCAB 47536–47537; topotypes: ZUEC 3026–3027); *Bokermannohyla ravida* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Presidente Olegário (topotype: ZUEC 9108); *Bokermannohyla sazimai* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Araxá (CFBH 11575; AAG-UFU 0610–0611); Ibiá (CFBH 18417–18419, UFMG 3424–3429); Perdizes (AAG-UFU 2417; 2427–2429; 2615; 4789–4791; ZUEC 12063–12065); Sacramento (AAG-UFU 1034–1035); São Gotardo (AAG-UFU 0350–0366); São Roque de Minas (paratopotypes: ZUEC 4194–4196, ZUEC 4199–4200, ZUEC 4212–4213); Serra do Salitre (UFMG 844–848, UFMG 851–859); Uberaba (AAG-UFU 0553–0556, AAG-UFU 1041–1045); Vargem Bonita (topotypes: AAG-UFU 4842–4846); *Bokermannohyla vulcaniae* – BRAZIL: MINAS GERAIS: Poços de Caldas (topotype: AAG-UFU 4674).