

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

**Posição taxonômica de duas populações relacionadas à *Scinax squalirostris* (Lutz,
1925) (Anura: Hylidae)**

ANDRÉ GOMES LOPES

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,
obtido no Programa de Pós-Graduação em
Biologia Comparada.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2022

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

**Posição taxonômica de duas populações relacionadas à *Scinax squalirostris* (Lutz,
1925) (Anura: Hylidae)**

ANDRÉ GOMES LOPES

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, obtido no Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada.

Orientador: Prof. Dr. Ariovaldo Antonio Giaretta

RIBEIRÃO PRETO - SP

2022

**NÃO AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO DESTE
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU
ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO OU PESQUISA, UMA VEZ
QUE OS DADOS AQUI CONTIDOS SÃO INÉDITOS.**

Ficha catalográfica

Lopes, André Gomes

Posição taxonômica de duas populações relacionadas à *Scinax squalirostris* (Lutz, 1925) (Anura: Hylidae). Ribeirão Preto, 2022.

116 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP. Área de concentração: Biologia Comparada.

Orientador: Giaretta, Ariovaldo Antonio.

1. Anuros. 2. Bioacústica. 3. Cerrado. 4. Diversidade críptica. 5. Mata Atlântica. 6. Molecular. 7. Taxonomia integrativa.

FOLHA DE APROVAÇÃO

André Gomes Lopes

Posição taxonômica de duas populações relacionadas à *Scinax squalirostris* (Lutz, 1925)
(Anura: Hylidae). Ribeirão Preto, 2022.

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

Agradeço primeiramente ao meu pai, Sídney Gomes Lopes, por todo o suporte fornecido durante o período de realização deste trabalho.

Ao meu orientador Dr. Ariovaldo Antonio Giaretta, por todo o suporte fornecido para o desenvolvimento deste trabalho e pelo auxílio nas coletas de dados. Agradeço imensamente por abrir as portas do seu laboratório e por toda ajuda fornecida desde que iniciei os estudos taxonômicos com anuros, principalmente no que diz respeito à bioacústica. Agradeço também por apontar o potencial que havia na problemática de *Scinax squalirostris*.

Agradecimento especial ao Dr. Carlos Eduardo Costa-Campos por todas as oportunidades oferecidas durante esse período e pelas discussões produtivas sobre diversos tópicos. Devido às colaborações tive a chance de me aprofundar em outros grupos taxonômicos, bem como visualizar diferentes perspectivas. Deixo registrada a minha admiração pelo seu entusiasmo em documentar as diversas faces da biodiversidade.

À Coleção de Anfíbios do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC-AMP) e seu respectivo curador Dr. Luis Felipe Toledo, pelo empréstimo de espécimes topotípicos de *Scinax squalirostris*. Agradeço também à Bióloga responsável Karina Rebelo Elisiário de Almeida, que gentilmente auxiliou durante esse processo de empréstimo. Agradeço também aos coletores desses espécimes: Dr. Ariovaldo A. Giaretta, Dr. L. M. Castanho e Michel.

Às seguintes pessoas que auxiliaram na coleta de dados na Serra da Canastra: Dr. Ariovaldo Antonio Giaretta, Dr. Thiago R. de Carvalho, Dr. Lucas B. Martins e Msc. Pedro Marinho.

Ao Dr. Thiago R. de Carvalho e ao Dr. Lucas B. Martins, visto que foram os dados

que coletaram em 2013 que primariamente chamaram a minha atenção para a possível existência de mais de uma linhagem de *Scinax squalirostris* na Serra da Canastra. Grato também ao Thiago por compartilhar informações sobre a região de coleta e ao Lucas por enviar coordenadas exatas do ponto onde uma das linhagens ocorria.

Ao Dr. Thiago Ribeiro de Carvalho pela importante discussão sobre diversos aspectos deste trabalho em um estágio ainda inicial.

Ao Dr. Fábio Hepp pelos comentários e sugestões sobre uma versão prévia deste trabalho.

Ao Dr. Adrian Antonio Garda e ao Msc. Leandro Alves da Silva, que prontamente aceitaram colaborar com a realização das análises moleculares do presente trabalho. Agradeço imensamente ao Leandro também pelas sugestões, discussões e troca de informações nesse período.

A todos os colaboradores em artigos produzidos durante esse período.

Ao Dr. Thiago Ribeiro de Carvalho, à Dra. Tiana Kohlsdorf e ao Dr. Rafael Félix de Magalhães, que como membros da banca de qualificação avaliaram e teceram críticas construtivas sobre uma versão inicial deste trabalho.

Ao Cornell Lab of Ornithology (K. Lisa Yang Center for Conservation Bioacoustics) por fornecer uma licença grátis para utilização do *software* Raven Pro.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado concedida (130380/2020-2).

RESUMO

Um importante alicerce para pesquisas em biodiversidade é a taxonomia, disciplina da Biologia que identifica, descreve, nomeia e classifica entidades naturais. Visto que a biodiversidade global enfrenta uma crise de extinção, pesquisas taxonômicas são cruciais para estabelecer uma base sólida que suporte a execução de ações conservacionistas. Anura é o grupo mais diverso em Amphibia, mas sua real diversidade ainda é altamente subestimada, principalmente pelo fato de compreender vários táxons com a morfologia externa conservada (i.e. complexos de espécies). Em vista disso, abordagens taxonômicas integrando diferentes fontes de dados (e.g. morfológicos, morfométricos, acústicos, moleculares) devem ser aplicadas para potencializar o processo de descoberta de novas espécies. *Scinax* é um grupo que compreende muitas espécies de anuros arborícolas neotropicais, cuja diversidade acredita-se estar subestimada. *Scinax squalirostris* é tida como amplamente distribuída nas regiões central e sul da América do Sul ao longo de uma ampla faixa altitudinal. A literatura reporta divergências fenotípicas e moleculares para essa espécie, sugerindo que ela possa representar um complexo de espécies. A fim de contribuir com a taxonomia de *S. squalirostris*, a partir de uma abordagem integrando dados morfológicos, morfométricos, acústicos e moleculares, o presente trabalho objetivou avaliar a identidade taxonômica de duas populações simpátricas da Serra da Canastra (MG) atribuídas à *S. squalirostris*. As duas populações foram especificamente selecionadas para este estudo, pois sabia-se previamente que elas divergiam acusticamente entre si e em relação a topótipos, o que sinalizava a possibilidade de representarem táxons distintos. Para melhor compreensão do contexto filogenético de *S. squalirostris*, e consequentemente avaliar com maior precisão a posição filogenética das duas populações da Canastra, sequências de outras populações atribuídas à *S. squalirostris* depositadas no GenBank também foram incluídas nas análises. As

análises moleculares revelaram cinco linhagens além da nominal (= *S. squalirostris* sensu stricto), com as populações da Canastra correspondendo a duas linhagens distintas aqui denominadas *S. squalirostris* 1 (irmã da linhagem nominal) e *S. squalirostris* 3 (relacionada a linhagens do Espinhaço Sul). *Scinax squalirostris* 1 pode ser diagnosticada da linhagem nominal com base no canto e em ligeiras diferenças em morfometria. *Scinax squalirostris* 3 se diagnostica da linhagem nominal e de *S. squalirostris* 1 com base em um caractere cromático, e seu canto é claramente distinto do canto da linhagem nominal e ligeiramente diferente do canto de *S. squalirostris* 1. As diferenças encontradas sugerem que as linhagens da Canastra poderiam corresponder a táxons distintos não descritos. Entretanto, a existência de várias linhagens em *S. squalirostris* torna o cenário intrincado, visto que a descrição de alguma linhagem implicaria no reconhecimento de outras, de forma que uma descrição precipitada poderia inflar desnecessariamente o grupo. Além disso, trabalhos apontam para a existência de outras linhagens além das que foram aqui recuperadas, o que torna o contexto ainda mais complexo. Perante o exposto, não foram tomadas decisões taxonômicas sobre as linhagens da Canastra no momento, enfatizando-se a necessidade de estudos futuros com abordagens integrativas englobando toda a distribuição da espécie. A obtenção de dados de outras populações e linhagens permitirá concluir se as diferenças aqui apontadas de fato se sustentam, e se outras linhagens podem ser fenotipicamente diagnosticadas de forma que concordem com um arranjo filogenético contemplando a formalização de alguma (ou ambas) das linhagens da Canastra.

Palavras-chave: Anuros. Bioacústica. Cerrado. Diversidade críptica. Mata Atlântica. Molecular. Taxonomia integrativa.

ABSTRACT

An important foundation for biodiversity research is taxonomy, the discipline of biology that identifies, describes, names, and classifies natural entities. Since global biodiversity faces an extinction crisis, taxonomic research is crucial to establish a solid foundation to support the implementation of conservation actions. Anura is the most speciose group within Amphibia, but its true diversity is still highly underestimated, mainly due to the fact that it comprises several taxa with conserved external morphology (i.e. species complexes). In view of this, taxonomic approaches integrating different data sources (e.g. morphological, morphometric, acoustic, molecular) should be applied to enhance the process of new species discovery. *Scinax* is a speciose group of Neotropical treefrogs, whose diversity is believed to be underestimated. *Scinax squalirostris* is thought to be widely distributed in the central and southern regions of South America over a wide altitudinal range. Literature reports phenotypic and molecular divergences for this species, suggesting that it may represent a species complex. In order to contribute to the taxonomy of *S. squalirostris*, based on an approach integrating morphological, morphometric, acoustic and molecular data, the present work aimed to assess the taxonomic identity of two sympatric populations from Serra da Canastra (MG) assigned to *S. squalirostris*. The two populations were specifically selected for this study because it was previously known that they diverged acoustically from each other and in relation to topotypes, which highlighted the possibility that they represent distinct taxa. To better understand the phylogenetic context of *S. squalirostris*, and consequently to more accurately assess the phylogenetic position of the two populations from Canastra, sequences from other populations assigned to *S. squalirostris* deposited in GenBank were also included in the analyses. The molecular analyses revealed five lineages in addition to the nominal one, with the populations from Canastra corresponding to two distinct

lineages herein named *S. squalirostris* 1 (sister to the nominal lineage) and *S. squalirostris* 3 (related to lineages from the Espinhaço Sul). *Scinax squalirostris* 1 can be diagnosed from the nominal lineage based on call and slight differences in morphometry. *Scinax squalirostris* 3 is diagnosed from the nominal lineage and from *S. squalirostris* 1 based on one chromatic trait, and its call is clearly distinct from the call of the nominal lineage and slightly different from that of *S. squalirostris* 1. The differences found suggest that the lineages from Canastra could correspond to distinct undescribed taxa. However, the existence of several lineages in *S. squalirostris* makes the scenario intricate, since the description of any lineage would imply the recognition of others, so that a hasty description could unnecessarily inflate the group. In addition, studies point to the existence of lineages other than the ones recovered herein, which makes the situation even more complex. Given the above, no taxonomic decisions about the lineages from Canastra have been made at this point, emphasizing the need for future studies with integrative approaches encompassing the entire distribution of the species. Data from other populations and lineages will allow to conclude if the differences pointed out here are in fact supported, and if other lineages can be phenotypically diagnosed in such a way that they agree with a phylogenetic arrangement contemplating the formalization of one (or both) of the lineages from Canastra.

Keywords: Anurans. Atlantic Forest. Bioacoustics. Cerrado. Cryptic diversity. Integrative taxonomy. Molecular.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 A importância da taxonomia para a biodiversidade	13
1.2 Anura — contexto geral	13
1.3 Caracterização do táxon modelo — <i>Scinax squalirostris</i> (A. Lutz, 1925).....	16
2 OBJETIVOS.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Áreas de estudo e coletas de dados.....	20
3.2 Análises moleculares	23
3.2.1 Protocolo de extração de DNA e PCR	23
3.2.2 Inferência filogenética	23
3.2.3 Delimitação de linhagens	25
3.2.4 Distâncias genéticas.....	25
3.3 Análises morfológicas e morfométricas	26
3.4 Análises acústicas	28
3.5 Análises estatísticas	31
4 RESULTADOS	33
4.1 Diversidade genética de <i>Scinax squalirostris</i>	33
4.2 Caracterização fenotípica das linhagens <i>Scinax squalirostris</i> SS, <i>S. squalirostris</i> 1 e <i>S. squalirostris</i> 3	38
4.2.1 Descrições morfológicas, cromáticas e morfométricas	38
4.2.2 Descrições dos cantos de anúncio	45
4.3 Análises multivariadas e comparações estatísticas.....	51
4.3.1 Dados morfométricos	51
4.3.2 Dados acústicos	55
5 DISCUSSÃO	59
5.1 Relações filogenéticas em <i>Scinax squalirostris</i>	59
5.2 Diferenças fenotípicas entre as linhagens <i>Scinax squalirostris</i> SS, <i>S. squalirostris</i> 1 e <i>S. squalirostris</i> 3	62
5.3 Considerações taxonômicas.....	64
6 CONCLUSÕES GERAIS	67
7 REFERÊNCIAS	70
8 APÊNDICES	90
9 ANEXO	116

1 INTRODUÇÃO

1.1 A importância da taxonomia para a biodiversidade

A taxonomia é a área da Biologia encarregada da identificação, descrição, nomeação e classificação dos organismos (Khuroo et al., 2007; Schlick-Steiner et al., 2010; Kaiser et al., 2013). Diversas áreas da Biologia (e.g. biogeografia, biologia da conservação, biologia evolutiva, ecologia) dependem de dados taxonômicos para o avanço de seus estudos (Dayrat et al., 2005). Nesse contexto destaca-se a área da conservação, que está intrinsicamente ligada à taxonomia, dependendo de diversos tipos de informações taxonômicas (e.g. distribuição de espécies, inventários) para efetivar ações (e.g. avaliar ameaças às espécies, determinar áreas prioritárias para conservação) (Dubois, 2003; Mace, 2004; Scheffers et al., 2012; Costello, 2015; Ely et al., 2017).

Pesquisadores reconhecem que a biodiversidade enfrenta uma crise de extinção em massa (Pereira et al., 2010; Pimm et al., 2014; Ceballos et al., 2015, 2020; Lees & Pimm, 2015; Proença & Pereira, 2017; Tollefson, 2019; Cowie et al., 2022), com espécies podendo ser extintas antes mesmo de serem formalmente descritas (Pimm et al., 2014; Lees & Pimm, 2015; Proença & Pereira, 2017; Cowie et al., 2022). Estudos sugerem que as projeções sobre as taxas de extinção encontram-se subestimadas (Scheffers et al., 2012; Liu et al., 2022), tornando a situação ainda mais alarmante. Esse cenário demanda ações conservacionistas imediatas, mas para que essas sejam eficazmente executadas, é necessário que uma base taxonômica sólida seja estabelecida (Dubois, 2003; Khuroo et al., 2007; Scheffers et al., 2012; Thomson et al., 2018).

1.2 Anura — contexto geral

Anura compreende os organismos popularmente referidos como sapos, rãs e pererecas. Com quase 7500 espécies (Frost, 2022), esse grupo tem sua riqueza

majoritariamente concentrada na Região Neotropical (Duellman, 1988, 1999; Wake & Koo, 2018), sendo que o Brasil é o país com o maior número de espécies (> 1100) (Wake & Koo, 2018; Segalla et al., 2021). Houve um expressivo avanço nos estudos taxonômicos do grupo nas últimas décadas, que refletiu em um substancial aumento da taxa de descrição de espécies (Glaw & Köhler, 1998; Köhler et al., 2005; Guerra et al., 2020). Apesar dessa diversidade, os anuros encontram-se extremamente ameaçados a nível global (IUCN, 2021), com drásticos declínios populacionais e extinções de espécies registrados principalmente a partir da década de 1990 (Blaustein & Wake, 1990; Laurance et al., 1996; Lips, 1999; Houlahan et al., 2000; La Marca et al., 2005; Stuart et al., 2004; Young et al., 2001, 2004; Wells, 2007; Crawford et al., 2010; Campos-Cerqueira & Aide, 2017; T. Carvalho et al., 2017; Scheele et al., 2019).

Há uma série de fatores (modificações do habitat, patógenos, contaminantes ambientais, etc.) que atuando de forma independente e/ou sinérgica têm impactado negativamente o grupo (ver Young et al., 2001, 2004; Carrasco, 2019). Considerando que estudos apontam que uma substancial fração de espécies de anuros ainda não foi descrita (Fouquet et al., 2007a; Funk et al., 2012; Gehara et al., 2014; Lyra et al., 2017; Motta et al., 2018; Guerra et al., 2020; Vacher et al., 2017, 2020), esses estressores podem dizimar, além da diversidade já conhecida, uma parcela do grupo que sequer foi formalizada pela ciência. Portanto, é necessário um maior empenho de taxonomistas a fim de documentar o máximo da diversidade de Anura, para impedir danos maiores do que os já registrados a esse grupo.

A evolução morfológica do grupo de modo geral é bastante conservada (Bossuyt & Milinkovitch, 2000; Check et al., 2001; Moen et al., 2013), de forma que identificações a nível de espécie com base apenas na morfologia podem ser difíceis ou mesmo inviáveis (e.g. T. R. Carvalho et al., 2019; Pinheiro et al., 2021). No entanto, também há muitos

casos de espécies que têm a morfologia externa altamente polimórfica (e.g. Caminer et al., 2017; Vieira et al., 2022), o que é problemático ao passo que confusões podem surgir acerca da delimitação entre o que constitui variação intraespecífica, e o que na verdade consiste em diferenças interespecíficas. Portanto, abordagens taxonômicas baseadas em uma única linha de evidência tendem a ser ineficazes, sendo necessário abordagens pluralísticas para que hipóteses taxonômicas robustas sejam construídas (Vences et al., 2010; Rojas et al., 2018). Esse tipo de abordagem denomina-se taxonomia integrativa, e consiste na aplicação síncrona de linhas de evidência distintas a fim de que diferentes perspectivas sejam avaliadas para se obter uma melhor resolução taxonômica (Dayrat et al., 2005; Padial et al., 2010).

Trabalhos recentes com anuros têm adotado essa abordagem integrativa e corroborado sua eficácia (e.g. Ferrão et al., 2018a,b, 2022; Baldo et al., 2019; Fouquet et al., 2021; Chávez et al., 2022). Uma linha de evidência que se destacou nos últimos tempos é a molecular, mostrando-se importante para indicar potenciais linhagens crípticas e pseudocrípticas (e.g. Ferrão et al., 2016; Vacher et al., 2017, 2020; Malleret et al., 2022), bem como para auxiliar na resolução de problemas histórico-nomenclaturais (e.g. Vences et al., 2010; Lyra et al., 2020; Vittorazzi et al., 2021). Outra linha de evidência que tem expressiva importância nesse grupo é a acústica, pois a vocalização é o modo primário de comunicação dos anuros, sendo esses capazes de emitir diferentes tipos de sons (= cantos) de acordo com o contexto (Duellman & Trueb, 1994; Wells, 2007). O tipo mais comum é o canto de anúncio, emitido por machos a fim de atrair fêmeas coespecíficas e manter espaçamento em relação a indivíduos que vocalizam nas proximidades (Wells, 1977; Toledo et al., 2015; Köhler et al., 2017). O canto de anúncio é espécie-específico e atua como barreira de isolamento reprodutivo pré-zigótico (Wells, 1977; Toledo et al., 2015; Köhler et al., 2017), e por essa razão consiste em uma ferramenta valiosa para a resolução

de problemáticas taxonômicas (e.g. Nunes et al., 2012; T. R. Carvalho & Giaretta, 2013; Hepp et al., 2015; T. R. Carvalho et al., 2019; Guayasamin et al., 2019).

1.3 Caracterização do táxon modelo — *Scinax squalirostris* (A. Lutz, 1925)

Scinax Wagler, 1830 compreende 129 espécies de anuros arborícolas amplamente distribuídas pela América do Sul, ocorrendo também no México e em ilhas caribenhas (Frost, 2022). O gênero é suportado por sinapomorfias morfológicas (membrana entre os dedos I e II do pé não se estende além do tubérculo subarticular do dedo I; origem do *m. pectoralis abdominalis* através de tendões bem definidos; *m. pectoralis abdominalis* sobrepondo-se ao *m. obliquus externus*) e moleculares (83 transformações em proteínas nucleares e mitocondriais e genes ribossomais), e é estruturado nos clados subclados de *S. ruber* e de *S. catharinae* (Faivovich, 2002; Faivovich et al., 2005). O clado de *S. ruber* compreende 77 espécies (Novaes-e-Fagundes et al., 2021; Ferrão et al., 2022), das quais 13 estão alocadas no grupo de *S. rostratus* (Duellman, 1972; Faivovich, 2002; Faivovich et al., 2005; Lima et al., 2005), três no grupo de *S. uruguayus* (Baldo et al., 2019), e as restantes não foram atribuídas a nenhum grupo até o momento. Esse clado é suportado por sinapomorfias moleculares (53 transformações em proteínas nucleares e mitocondriais e genes ribossomais) e uma morfológica (em girinos, o tubo cloacal está posicionado acima da margem da nadadeira inferior) (Faivovich, 2002; Faivovich et al., 2005).

Estudos apontam que a diversidade do gênero está consideravelmente subestimada (Fouquet et al., 2007b; Guarnizo et al., 2015; Ferrão et al., 2016, 2022; Nogueira et al., 2015, 2016, 2022; Ron et al., 2018; Araujo-Vieira et al., 2020; Lopes et al., 2020; Vacher et al., 2020; Malleret et al., 2022). Há várias espécies de *Scinax* que apresentam a morfologia externa altamente conservada (e.g. Fonte, 2010; Nunes et al.,

2012; Brusquetti et al., 2014; Bang & Giaretta, 2017; Araujo-Vieira et al., 2020; Freitas et al., 2020; Novaes-e-Fagundes et al., 2021; Ferrão et al., 2022), o que torna tarefas taxonômicas no grupo complexas, acarretando assim nesse cenário no qual várias linhagens aguardam descrição formal. O intrincado histórico taxonômico do gênero (Faivovich, 2002; Araujo-Vieira et al., 2020), bem como a falta de informações precisas sobre a distribuição de algumas espécies e a subamostragem de determinadas regiões (Ferrão et al., 2016), são fatores que também influenciam esse cenário. Entretanto, trabalhos recentes adotando abordagens integrativas têm sido eficazes em resolver problemáticas e descrever novas espécies no grupo (e.g. Ferrão et al., 2017, 2018a,b, 2022; Ron et al., 2018; Baldo et al., 2019; Araujo-Vieira et al., 2020).

Scinax squalirostris (A. Lutz, 1925) é uma espécie relativamente pequena [comprimento rostro-cloacal de topótipos = 22.1–26.8 mm (presente estudo)] pertencente ao clado de *S. ruber* e não atribuída a nenhum grupo (Faivovich, 2002; Faivovich et al., 2005). Essa espécie prontamente se distingue morfológicamente de todos os congêneres devido à combinação de seu rostro substancialmente protuberante e pontiagudo, e a presença de uma faixa dorsolateral de coloração branco prateada, prateada ou dourada, que se estende desde o olho até a região inguinal (Pinheiro et al., 2014). A espécie foi descrita de Fazenda do Bonito, Serra da Bocaina, São José do Barreiro, estado de São Paulo (SP), Brasil (Bokermann, 1966; B. Lutz, 1973), e é tida como amplamente distribuída pela América do Sul ao longo de uma vasta faixa altitudinal (0 a 3600 metros acima do mar) (Figura 1; Apêndice I). No Brasil a espécie ocorre nos biomas Mata Atlântica, Cerrado, Pantanal e Pampa, e se estende também ao Uruguai, Argentina, Paraguai e Bolívia (Figura 1). Apesar de ocorrer continuamente ao longo de áreas de Pampa e Chaco Úmido, a espécie tem distribuição disjunta no Cerrado e na Mata Atlântica, com os registros nesses últimos biomas restringindo-se a áreas de campos ou

brejos em altitudes elevadas referidas como “*sky islands*” (Magalhães, 2012; Faria et al., 2013). Reconhecem-se três nomes em sua sinonímia, os quais foram descritos da porção sul de sua distribuição: *Hyla leucotaenia* Burmeister, 1861 (Paraná, Província de Entre Ríos, nordeste da Argentina), *Hyla lindneri* Müller and Hellmich, 1936 (Formosa, Província de Formosa, extremo norte da Argentina) e *Hyla evelynae* Schmidt, 1944 (Hacienda Alvarez, 15 km NE de San Carlos, Departamento de Maldonado, extremo sudeste do Uruguai).

Até o início do presente trabalho, havia divergências na literatura acerca dos reais valores das variáveis do canto de anúncio da população topotípica de *Scinax squalirostris* (Faria et al., 2013; Garey et al., 2018), mas essa questão foi esclarecida por Giaretta et al. (2020) que forneceram uma detalhada recharacterização de seu canto topotípico (ver seção Anexo). Substanciais diferenças interpopulacionais têm sido reportadas para essa espécie no que diz respeito ao canto de anúncio (Haddad et al., 1988; Pombal Jr. et al., 1995, 2011; Faria et al., 2013; Leite et al., 2019; Giaretta et al., 2020), e algumas diferenças no tamanho e morfologia de adultos (B. Lutz, 1952a,b, 1973; Cochran, 1955; Gallardo, 1961; Haddad et al., 1988; Pombal Jr. et al., 2011) e girinos (Klappenbach & Langone, 1992; Silva, 2020; Pezzuti et al., 2021) também foram relatadas. Além disso, alguns estudos também reportaram divergências genéticas entre diferentes populações atribuídas a essa espécie (Magalhães, 2012; Lyra et al., 2017; Abreu-Jardim, 2018; Koroiva et al., 2020; Vacher et al., 2020; Abreu-Jardim et al., 2021). Essas variações fenotípicas e genéticas, somadas à distribuição disjunta em parte da sua área de ocorrência, chamam a atenção para a possibilidade de *S. squalirostris* representar um complexo de espécies, destacando a necessidade de uma melhor avaliação da identidade de populações atribuídas a esse nome.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Scinax squalirostris é tida como amplamente distribuída nas porções central e sul da América do Sul. A literatura aponta diferenças fenotípicas e genéticas entre suas populações, sinalizando a possibilidade da existência de um complexo de espécies. O presente trabalho investigou a identidade de duas populações simpátricas da Serra da Canastra (MG) atribuídas à *S. squalirostris*, com base em dados morfológicos, cromáticos, morfométricos, acústicos e moleculares, sendo o primeiro estudo nesse grupo com abordagem totalmente integrativa.

As análises do fragmento gênico mitocondrial 16S, englobando sequências das populações da Canastra e sequências do GenBank de outras populações atribuídas à *Scinax squalirostris*, revelaram cinco linhagens além da linhagem nominal. As populações da Canastra focais deste estudo corresponderam a linhagens distintas aqui denominadas *S. squalirostris* 1 (irmã da linhagem nominal) e *S. squalirostris* 3 (mais relacionada à duas linhagens do Espinhaço Sul). *Scinax squalirostris* 1 se diagnostica da linhagem nominal com base no canto de anúncio e em alguns traços morfométricos. *Scinax squalirostris* 3 difere de *S. squalirostris* 1 e da linhagem nominal com base em um caractere cromático e no canto de anúncio.

As diferenças encontradas sugerem que as linhagens da Canastra seriam táxons distintos entre si e em relação à linhagem nominal. Entretanto, as diferenças em morfometria entre *S. squalirostris* 1 e a linhagem nominal não são tão expressivas de modo a garantir essa primeira como uma espécie nova. Apesar de o canto diagnosticar *S. squalirostris* 1 e *S. squalirostris* 3 da linhagem nominal, as diferenças entre as linhagens da Canastra são mais sutis. Ademais, cantos de outras populações da linhagem nominal além da população topotípica não foram avaliados para atestar se as diferenças aqui apontadas se mantêm ao longo de sua distribuição. Há uma população do Espinhaço Sul

reportada pela literatura que possivelmente corresponde à *S. squalirostris* 2, uma linhagem aqui recuperada como próxima de *S. squalirostris* 3. A baixa distância genética entre essas duas últimas linhagens sugere que elas poderiam corresponder a um mesmo táxon. Todavia, o canto dessa população que corresponderia à *S. squalirostris* 2 é mais similar ao canto de *S. squalirostris* 1, gerando implicações em eventuais decisões a serem tomadas sobre a identidade das linhagens da Canastra.

A existência de várias linhagens em *Scinax squalirostris* constitui um complicado cenário para decisões taxonômicas serem tomadas, visto que a descrição de uma linhagem implica obrigatoriamente no reconhecimento de outras, de modo que uma descrição indevida causaria inflação taxonômica. Outros estudos sugerem a existência de outras linhagens além das que foram aqui recuperadas, tornando esse cenário ainda mais intrincado.

Assume-se aqui uma posição conservadora de não nomear nenhuma das linhagens da Canastra no presente momento. Enfatiza-se a necessidade de estudos futuros com esse grupo abarcando as mesmas fontes de dados aqui aplicadas, mas englobando toda a distribuição da espécie. A obtenção de dados de outras populações e linhagens permitirá concluir se as diferenças fenotípicas aqui observadas se sustentam, e se outras linhagens podem ser fenotipicamente diagnosticadas de modo a suportar um arranjo filogenético onde uma, ou ambas as linhagens da Canastra, sejam reconhecidas como táxons novos.

7 REFERÊNCIAS

- Abreu-Jardim, T. P. F. (2018) *A história evolutiva de uma perereca Sul-Americana Scinax squalirostris (Lutz, 1925) (Anura, Hylidae): um resgate do passado e consequências futuras*. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular), Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, p. 236.
- Abreu-Jardim, T. P. F., Jardim, L., Ballesteros-Mejia, L., Maciel, N. M., & Collevatti, R. G. (2021) Predicting impacts of global climatic change on genetic and phylogeographical diversity of a Neotropical treefrog. *Diversity and Distributions*, 27(8), 1519–1535.
- Araujo-Vieira, K., Pombal Jr., J. P., Caramaschi, U., Novaes-e-Fagundes, G., Orrico, V. G. D., & Faivovich, J. (2020) A neotype for *Hyla x-signata* Spix, 1824 (Amphibia, Anura, Hylidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 60, 1–30.
- Archer, E. (2020) *rfPermute: Estimate Permutation p-Values for Random Forest Importance Metrics*. Pacote do R versão 2.1.81. Disponível em <https://CRAN.R-project.org/package=rfPermute>
- Baldo, D., Araujo-Vieira, K., Cardozo, D., Borteiro, C., Leal, F., Pereyra, M. O., ... Faivovich, J. (2019) A review of the elusive bicolored iris snouted treefrogs (Anura: Hylidae: *Scinax uruguayus* group). *PLoS ONE*, 14(9), e0222131.
- Bang, D. L., & Giaretta, A. A. (2017) A reassessment of the vocalizations of three species of *Oloolygon* (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil. *Phyllomedusa*, 16(1), 23–45.
- Blaustein, A. R., & Wake, D. B. (1990) Declining amphibian populations: A global phenomenon? *Trends in Ecology & Evolution*, 5, 203–204.

- Bokermann, W. C. (1966) *Lista Anotada das Localidades Tipo de Anfíbios Brasileiros*. São Paulo. Serviço de Documentação, RUSP, p. 183.
- Bossuyt, F., & Milinkovitch, M. C. (2000) Convergent adaptive radiations in Madagascan and Asian ranid frogs reveal covariation between larval and adult traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*, 6585–6590.
- Bouckaert, R., Vaughan, T. G., Barido-Sottani, J., Duchene, S., Fourment, M., Gavryushkina, A., ... Drummond, A. J. (2019) BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Computational Biology*, *15*(4), e1006650.
- Breiman, L. (2001) Random forests. *Machine learning*, *45*(1), 5–32.
- Bruford, M. W., Hanotte, O., Brookefield, J. F. Y., & Burke, T. (1992) Single-locus and multilocus DNA fingerprint. In: Hoelzel, A.R. (Ed.), *Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach*. IRL Press, Oxford, p. 225–270.
- Brusquetti, F., Jansen, M., Barrio-Amorós, C., Segalla, M., & Haddad, C. F. B. (2014) Taxonomic review of *Scinax fuscomarginatus* (Lutz, 1925) and related species (Anura; Hylidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, *171*(4), 783–821.
- Burmeister, C. H. C. (1861) *Reise durch die La Plata-Staaten mit besonderer Rücksicht auf die Physische Beschaffenheit und den Culturzustand der Argentinischen Republik. Ausgeführt in den Jahren 1857, 1858, 1859 und 1860. Vol. 2*. H.W. Schmidt, Halle, iv + p. 538.
- Caminer, M. A., Milá, B., Jansen, M., Fouquet, A., Venegas, P. J., Chávez, G., ... Ron, S. R. (2017) Systematics of the *Dendropsophus leucophyllatus* species complex (Anura: Hylidae): cryptic diversity and the description of two new species. *PLoS One*, *12*(3),

e0171785.

Campos-Cerqueira, M., & Aide, T. M. (2017) Lowland extirpation of anuran populations on a tropical mountain. *PeerJ*, 5, e4059.

Carrasco, G. H. (2019) *Efeitos antrópicos e ambientais para o declínio populacional dos anuros no mundo*. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação), Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, p. 57.

Carvalho, T., Becker, C. G., & Toledo, L. F. (2017) Historical amphibian declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1848), 20162254.

Carvalho, T. R., & Giaretta, A. A. (2013) Taxonomic circumscription of *Adenomera martinezi* (Bokermann, 1956) (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) with the recognition of a new cryptic taxon through a bioacoustic approach. *Zootaxa*, 3701(2), 207–237.

Carvalho, T. R., Cassini, C. S., Taucce, P. P. G., & Haddad, C. F. B. (2019) A new, morphologically cryptic species of *Adenomera* closely related to *Adenomera araucaria* from the Atlantic Forest of southern Brazil (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Herpetology*, 53(2), 131–143.

Ceballos, G., Ehrlich, P. R., Barnosky, A. D., García, A., Pringle, R. M., & Palmer, T. M. (2015) Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. *Science Advances*, 1, e1400253.

Ceballos, G., Ehrlich, P. R., & Raven, P. H. (2020) Vertebrates on the brink as indicators of biological annihilation and the sixth mass extinction. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences, 117(24), 13596–13602.

Charif, R. A., Waack, A. M., & Strickman, L. M. (2010) *Raven Pro 1.4 User's Manual*.

Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY.

Chávez, G., Thompson, M. E., Sánchez, D. A., Chávez-Arribasplata, J. C., & Catenazzi,

A. (2022) A needle in a haystack: Integrative taxonomy reveals the existence of a new small species of fossorial frog (Anura, Microhylidae, *Synapturanus*) from the vast lower Putumayo basin, Peru. *Evolutionary Systematics*, 6, 9–20.

Chek, A. A., Loughheed, S. C., Bogart, J. P., & Boag, P. T. (2001) Perception and history:

molecular phylogeny of a diverse group of neotropical frogs, the 30-chromosome *Hyla* (Anura: Hylidae) *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18(3), 370–85.

Cochran, D. M. (1955) *Frogs of southeastern Brazil*. *Bulletin of the United States*

National Museum, 206, p. 423.

Costello, M. J. (2015) Biodiversity: the known, unknown, and rates of extinction. *Current*

Biology, 25(9), R368–R371.

Cowie, R. H., Bouchet, P., & Fontaine, B. (2022) The Sixth Mass Extinction: fact, fiction

or speculation? *Biological Reviews*, 97(2), 640–663.

Crawford, A. J., Lips, K. R., & Bermingham, E. (2010) Epidemic disease decimates

amphibian abundance, species diversity, and evolutionary history in the highlands of central Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(31), 13777–13782.

Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012) jModelTest 2: more models,

new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), 772.

Dayrat, B. (2005) Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean*

Society, 85(3), 407–417.

Dubois, A. (2003) The relationships between taxonomy and conservation biology in the century of extinctions. *Comptes Rendus Biologies*, 326, 9-21.

Duellman, W. E. (1970) *The Hylid Frogs of Middle America*. Museum of Natural History, The University of Kansas, Lawrence, Kansas, p. 753.

Duellman, W. E. (1972) South American frogs of the *Hyla rostrata* group (Amphibia, Anura, Hylidae). *Zoologische Mededelingen*, 47(14), 177–192.

Duellman, W. E. (1988) Patterns of species diversity in anuran amphibians in the American tropics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75, 79–104.

Duellman, W. E. (1999) Global distribution of amphibians: patterns, conservation, and future challenges. In: Duellman, W.E. (Ed.), *Patterns of Distribution of Amphibians: A Global Perspective*. Johns Hopkin Univ. Press, Baltimore, Maryland, p. 1–30.

Duellman, W. E., & Trueb, L. (1994) *Biology of Amphibians*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, p. 670.

Ely, C. V., de Bordignon, S. A. L., Trevisan, R., & Boldrini, I. I. (2017) Implications of poor taxonomy in conservation. *Journal for Nature Conservation*, 36, 10–13.

Faivovich, J. (2002) A cladistic analysis of *Scinax* (Anura: Hylidae). *Cladistics*, 18(4), 367–393.

Faivovich, J., Haddad, C. F. B., Garcia, P. C. A., Frost, D. R., Campbell, J. A., & Wheeler, W. C. (2005) Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 2005(294), 1–240.

- Faria, D. C. C., Signorelli, L., Morais, A. R., Bastos, R. P., & Maciel, N. M. (2013) Geographic structure and acoustic variation in populations of *Scinax squalirostris* (A. Lutz, 1925) (Anura: Hylidae). *North-Western Journal of Zoology*, 9(2), 329–336.
- Ferrão, M., Colatreli, O., Fraga, R., Kaefer, I. L., Moravec, J., & Lima, A. P. (2016) High species richness of *Scinax* treefrogs (Hylidae) in a threatened Amazonian landscape revealed by an integrative approach. *PLoS ONE*, 11(11), e0165679.
- Ferrão, M., Moravec, J., Fraga, R., Almeida, A. P., Kaefer, I. L., & Lima, A. P. (2017) A new species of *Scinax* from the Purus-Madeira interfluvium, Brazilian Amazonia (Anura, Hylidae). *ZooKeys*, 706, 137–162.
- Ferrão, M., Fraga, R., Moravec, J., Kaefer, I. L., & Lima, A. P. (2018a) A new species of Amazonian snouted treefrog (Hylidae: *Scinax*) with description of a novel species-habitat association for an aquatic breeding frog. *PeerJ*, 6, e4321.
- Ferrão, M., Moravec, J., Kaefer, I. L., Fraga, R., & Lima, A. P. (2018b) New species of *Scinax* (Anura: Hylidae) with red-striped eyes from Brazilian Amazonia. *Journal of Herpetology*, 52(4), 472–488.
- Ferrão, M., Moravec, J., Ferreira, A. S., Moraes, L. J., & Hanken, J. (2022) A new snouted treefrog of the genus *Scinax* (Anura, Hylidae) from the white-sand forests of central Amazonia. *Breviora*, (573): 1–36.
- Fonte, L. F. M. (2010) *Variação morfológica e na estrutura do canto em Scinax granulatus* (Peters, 1871) (Anura, Hylidae). Dissertação (Mestrado em Biologia Animal), Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 76.
- Fouquet, A., Gilles, A., Vences, M., Marty, C., Blanc, M., & Gemmill, N. J. (2007a)

Underestimation of species richness in Neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. *PLoS ONE*, 2(10), e1109.

Fouquet, A., Vences, M., Salducci, M-D., Meyer, A., Marty, C., Blanc, M., & Gilles, A. (2007b) Revealing cryptic diversity using molecular phylogenetics and phylogeography in frogs of the *Scinax ruber* and *Rhinella margaritifera* species groups. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2), 567–582.

Fouquet, A., Marinho, P., Réjaud, A., Carvalho, T. R., Caminer, M. A., Jansen, M., ... Ron, S. (2021) Systematics and biogeography of the *Boana albopunctata* species group (Anura, Hylidae), with the description of two new species from Amazonia. *Systematics and Biodiversity*, 19(4), 375–399.

Freitas, T. M. B., Sales, J. B. L., Sampaio, I., Piorski, N. M., & Weber, L. N. (2020) Identification of the taxonomic status of *Scinax nebulosus* and *Scinax constrictus* (Scinaxinae, Anura) based on molecular markers. *Brazilian Journal of Biology*, 81(4), 855–866.

Frost, Darrel R. 2022. *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.1. Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA (acessado em 02 de Junho de 2022).

Funk, W. C., Caminer, M., & Ron, S. R. (2012) High levels of cryptic species diversity uncovered in Amazonian frogs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1734), 1806–1814.

Gallardo, J. M. (1961) *Hyla strigilata* Spix e *Hyla squalirostris* A. Lutz en la republica Argentina; y algunas observaciones sobre otros anfibios del grupo de *Hyla rubra* Daudin. *Comunicaciones del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino*

Rivadavia" e Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales. Ciencias Zoológicas Tomo III, n°5, 145–158.

Garey, M. V., Provete, D. B., Gonçalves-Souza, T., Ouchi-Melo, L. S., Haddad, C. F. B., & Rossa-Feres, D. C. (2018) Phylogenetic and adaptive components of the anuran advertisement call correlate with temporal species co-occurrence. *Biological Journal of the Linnean Society*, 125(2), 292–301.

Gehara, M., Crawford, A. J., Orrico, V. G. D., Rodríguez, A., Lötters, S., Fouquet, A., ... Köhler, J. (2014) High levels of diversity uncovered in a widespread nominal taxon: continental phylogeography of the Neotropical tree frog *Dendropsophus minutus*. *PLoS One*, 9, e103958.

Giaretta, A. A., Lopes, A. G., & Bang, D. L. (2020) Reassessment of the advertisement call of topotypic *Scinax squalirostris* (Anura: Hylidae), with an acoustic evaluation of its occurrence in the Serra da Mantiqueira, southeastern Brazil. *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 19(1), 49–61.

Glaw, F., & Köhler, J. (1998) Amphibian species diversity exceeds that of mammals. *Herpetological Review*, 29(1), 11–12.

Guarnizo, C. E., Paz, A., Muñoz-Ortiz, A., Flechas, S. V., Méndez-Narváez, J., & Crawford, A. J. (2015) DNA barcoding survey of anurans across the Eastern Cordillera of Colombia and the impact of the Andes on cryptic diversity. *PLoS One*, 10(5), e0127312.

Guayasamin, J. M., Vieira, J., Glor, R. E., & Hutter, C. R. (2019) A new glassfrog (Centrolenidae: *Hyalinobatrachium*) from the Topo river basin, Amazonian slopes of the Andes of Ecuador. *Amphibian & Reptile Conservation*, 13(2), 133–144.

- Guerra, V., Jardim, L., Llusia, D., Marquez, R., & Bastos, R. P. (2020) Knowledge status and trends in description of amphibian species in Brazil. *Ecological Indicators*, 118, 106754.
- Haddad, C. F. B., Andrade, G. V., & Cardoso, A. J. (1988) Anfíbios anuros no parque nacional da Serra da Canastra, Estado de Minas Gerais. *Brasil Florestal*, 64(24), 9–20.
- Heyer, W. R., Rand, A. S., Cruz, C. A. G., Peixoto, O. L., & Nelson, C. E. (1990) Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia*, 31(4), 231–410.
- Hepp, F., Carvalho-e-Silva, S. P., Carvalho-e-Silva, A. T., & Folly, M. (2015) A fifth species of the genus *Euparkerella* (Griffiths, 1959), the advertisement calls of *E. robusta* Izecksohn, 1988 and *E. tridactyla* Izecksohn, 1988, and a key for the *Euparkerella* species (Anura: Brachycephaloidea: Craugastoridae). *Zootaxa*, 3973(2), 251–270.
- Houlahan, J., Findlay, C. S., Schmidt, B. R., Meyer, A. H., & Kuzmin, S. L. (2000) Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, 404(6779), 752–755.
- IUCN. (2021) *The IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2021-3. <https://www.iucnredlist.org> (acessado em 20 de maio de 2022).
- Jombart, T. (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403–1405.
- Jombart, T., & Ahmed, I. (2011) adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21), 3070–3071.
- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010) Discriminant analysis of principal

components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11(1), 1–15.

K. Lisa Yang Center for Conservation Bioacoustics (2022) *Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software*. Version 1.5. The Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY. Disponível em <https://ravensoundsoftware.com/> (acessado em 31 de Março de 2022).

Kaiser, H., Crother, B. I., Kelly, C. M. R., Luiselli, L., O'Shea, M., Ota, H., ... Wüster, W. (2013) Best practices: in the 21st century, taxonomic decisions in herpetology are acceptable only when supported by a body of evidence and published via peer-review. *Herpetological Review*, 44(1), 8–23.

Katoh, K., & Standley, D. M. (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772–780.

Klappenbach, M. A., & Langone, J. A. (1992) Lista sistemática y sinonímica de los anfibios del Uruguay con comentarios y notas sobre su distribución. *Anales del Museo de Historia Natural de Montevideo*, 2.a Serie, 8, 163–222.

Köhler, J., Vieites, D. R., Bonett, R. M., García, F. H., Glaw, F., Steinke, D., & Vences, M. (2005) New amphibians and global conservation: a boost in species discoveries in a highly endangered vertebrate group. *BioScience*, 55(8), 693–696.

Köhler, J., Jansen, M., Rodríguez, A., Kok, P. J. R., Toledo, L. F., Emmrich, M., ... Vences, M. (2017) The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa*, 4251(1), 1–124.

Kok, P. J. R., & Kalamandeen, M. (2008) *Introduction to the taxonomy of the amphibians of Kaieteur National Park, Guyana*. Belgian Development Corporation, Brussels,

Belgium, p. 278.

Koroiva, R., Rodrigues, L. R. R., & Santana, D. J. (2020) DNA barcoding for identification of anuran species in the central region of South America. *PeerJ*, 8, e10189.

Khuroo, A. A., Dar, G. H., Khan, Z. S., & Malik, A. H. (2007) Exploring an inherent interface between taxonomy and biodiversity: current problems and future challenges. *Journal for Nature Conservation*, 15(4), 256–261.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549.

La Marca, E., Lips, K. R., Lötters, S., Puschendorf, R., Ibañez, R., Rueda-Almonacid, J. V., ... Young, B. E. (2005) Catastrophic population declines and extinctions in neotropical harlequin frogs (Bufonidae: *Atelopus*). *Biotropica*, 37(2), 190–201.

Laurance, W. F., McDonald, K. R., & Speare, R. (1996) Epidemic disease and the catastrophic decline of Australian rain forest frogs. *Conservation Biology*, 10(2), 406–413.

Lees, A. C., & Pimm, S. L. (2015) Species, extinct before we know them? *Current Biology*, 25(5), R177–R180.

Leite, F. S. F., Pezzuti, T. L., Santos, M. T., & Garcia, P. C. A. (2019) *Guia sonora dos anuros do Quadrilátero Ferrífero* (acessado em 02 de Junho de 2022). Acessível em <http://saglab.ufv.br/aqf/som/>. Universidade Federal de Viçosa, Campus Florestal, Minas Gerais, Brasil.

Liaw, A., & Wiener, M. (2002) Classification and regression by randomForest. *R news*,

2(3), 18–22.

Ligges, U., Krey, S., Mersmann, O., & Schnackenberg, S. (2018) *tuneR: Analysis of Music and Speech*. Pacote do R versão 1.3.3. Disponível em <https://CRAN.R-project.org/package=tuneR>. (acessado em 31 de Março de 2022).

Lima, L., Bastos, R. P., & Giaretta, A. A. (2005) A new *Scinax* Wagler, 1830 of the *S. rostratus* group from central Brazil (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos do Museu Nacional*, 62, 505–512.

Lips, K. R. (1999) Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in western Panama. *Conservation Biology*, 13(1), 117–125.

Liu, J., Slik, F., Zheng, S., & Lindenmayer, D. B. (2022). Undescribed species have higher extinction risk than known species. *Conservation Letters*, e12876.

Lopes, A. G., Bang, D. L., Marinho, P., & Giaretta, A.A. (2020). Acoustics suggests hidden diversity in *Scinax garbei* (Anura: Hylidae). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 19(1), 63–82.

Lutz, A. (1925) Batraciens du Brésil. *Comptes Rendus et Mémoires Hebdomadaires des Séances de la Société de Biologie et des ses Filiales. Paris*, 93(2), 211–214.

Lutz, B. (1952a) Anfíbios anuros da coleção Adolpho Lutz. VIII. *Hyla squalirostris* Lutz, 1925. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 50, 615–620.

Lutz, B. (1952b) Frogs of the Adolpho Lutz collection. VIII. *Hyla squalirostris* Lutz 1925. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 50, 621–624.

Lutz, B. (1973). *Brazilian Species of Hyla*. Austin. University of Texas Press, p. 260.

Lyra, M. L., Haddad, C. F. B., & Azeredo-Espin, A. M. L. (2017) Meeting the challenge

of DNA barcoding Neotropical amphibians: polymerase chain reaction optimization and new COI primers. *Molecular Ecology Resources*, 17(5), 966–980.

Lyra, M. L., Lourenço, A. C. C., Pinheiro, P. D. P., Pezzuti, T. L., Baêta, D., Barlow, A., ... Faivovich, J. (2020) High-throughput DNA sequencing of museum specimens sheds light on the long-missing species of the *Bokermannohyla claresignata* group (Anura: Hylidae: Cophomantini). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 190(4), 1235–1255.

Mace, G. M. (2004) The role of taxonomy in species conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1444), 711–719.

Magalhães, R. F. (2012) *Filogeografia em áreas abertas da América do Sul: origem e diversificação de linhagens de Scinax squalirostris (Anura, Hylidae)*. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução), Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, p. 86.

Malleret, M. M., Freire, M. D., Lemes, P., Brum, F. T., Camargo, A., & Verrastro, L. (2022) Phylogeography and species delimitation of the Neotropical frog complex (Hylidae: *Scinax granulatus*). *Zoologica Scripta*, 51(3), 330–347.

Mangiafico, S.S. (2015) *An R Companion for the Handbook of Biological Statistics, version 1.09j*. rcompanion.org/documents/RCompanionBioStatistics.pdf. Rutgers Cooperative Extension New Brunswick, NJ, p. 269.

Mangiafico, S.S. (2016) *Summary and Analysis of Extension Program Evaluation in R, version 1.19.10*. rcompanion.org/documents/RHandbookProgramEvaluation.pdf. Rutgers Cooperative Extension New Brunswick, NJ, p. 782.

- Mangiafico, S. (2021) *rcompanion: Functions to Support Extension Education Program Evaluation*. Pacote do R versão 2.3.27. Disponível em <https://CRAN.R-project.org/package=rcompanion>
- Moen, D. S., Irschick, D. J., & Wiens, J. J. (2013) Evolutionary conservatism and convergence both lead to striking similarity in ecology, morphology and performance across continents in frogs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1773), 20132156.
- Motta, J., Menin, M., Almeida, A. P., Hrbek, T., & Farias, I. P. (2018) When the unknown lives next door: a study of central Amazonian anurofauna. *Zootaxa*, 4438(1), 79–104.
- Müller, L., & Hellmich, W. (1936) *Amphibien und Reptilien. I. Teil-Amphibia, Chelonia, Loricata*. In: Krieg, H. (Ed.), *Wissenschaftliche Ergebnisse der Deutsche Gran Chaco-Expedition*. Strecker and Schröder, Stuttgart, p. 120.
- Napoli, M. F. (2005) A new species allied to *Hyla circumdata* (Anura: Hylidae) from Serra da Mantiqueira, Southeastern Brazil. *Herpetologica*, 61(1), 63–69.
- Nogueira, L., Paim, F., Diniz, D., Solé, M., Affonso, P. R. A. M., Siqueira, S., & Sampaio, I. (2015) Cytogenetic analysis of *Scinax auratus* and *Scinax eurydice* (Anura, Hylidae) with emphasis on cytotaxonomy. *Comparative Cytogenetics*, 9(2), 227–236.
- Nogueira, L., Solé, M., Siqueira, S., Affonso, P. R. A. M., Strüssmann, C., & Sampaio, I. (2016) Genetic analysis reveals candidate species in the *Scinax catharinae* clade (Amphibia: Anura) from Central Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 39(1), 49–53.
- Nogueira, L., Filho, L. F. S. R., Solé, M., Affonso, P. R. A. M., Siqueira, S., & Sampaio, I. (2022) DNA barcode reveals candidate species of *Scinax* and *Oloolygon* (Anura:

- Hylidae) in Atlantic Forest. *Genetics and Molecular Biology*, 45(1), e20210177.
- Novaes-e-Fagundes, G., Araujo-Vieira, K., Entiauspe-Neto, O.M., Roberto, I. J., Orrico, V. G. D., Solé, M., ... Loebmann, D. (2021) A new species of *Scinax* Wagler (Hylidae: Scinaxini) from the tropical forests of Northeastern Brazil. *Zootaxa*, 4903(1), 1–41.
- Nunes, I., Kwet, A., & Pombal Jr., J. P. (2012). Taxonomic revision of the *Scinax alter* species complex (Anura: Hylidae). *Copeia*, 2012(3), 554–569.
- Padial, J. M., Miralles, A., De la Riva, I., & Vences, M. (2010) The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7(1), 1-14.
- Palumbi, S. (1996) Nucleic acids II: The polymerase chain reaction. *In*: Hillis, D., Moritz, C. & Mable, B. (Eds.), *Molecular Systematics*. Sunderland, Sinauer Associates, p. 205–247.
- Pereira, H. M., Leadley, P. W., Proença, V., Alkemade, R., Scharlemann, J. P., Fernandez-Manjarrés, J. F., ... Walpole, M. (2010) Scenarios for global biodiversity in the 21st century. *Science*, 330(6010), 1496–1501.
- Pezzuti, T. L., Leite, F. S. F., Rossa-Feres, D. C., & Garcia, P. C. A. (2021) The tadpoles of the Iron Quadrangle, Southeastern Brazil: a baseline for larval knowledge and anuran conservation in a diverse and threatened region. *South American Journal of Herpetology*, 21(sp1), 1–107.
- Pimm, S. L., Jenkins, C. N., Abell, R., Brooks, T. M., Gittleman, J. L., Joppa, L. N., ... Sexton, J. O. (2014) The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection. *Science*, 344(6187), 1246752.
- Pinheiro, P. D. P., Faivovich, J., Langone, J. A., & Kwet, A. (2014) The identity of *Hyla*

- leucotaenia* Burmeister, 1861 (Anura: Hylidae). *Zootaxa*, 3884(2), 179–184.
- Pinheiro, P. D. P., Pezzuti, T. L., Berneck, B. V., Lyra, M. L., Lima, R. C., & Leite, F. S. (2021) A new cryptic species of the *Aplastodiscus albosignatus* group (Anura: Hylidae). *Salamandra*, 57(1), 27–43.
- Pombal Jr., J. P., Bastos, R. P., & Haddad, C. F. B. (1995) Vocalizações de algumas espécies de gênero *Scinax* (Anura, Hylidae) do sudeste do Brasil e comentários taxonômicos. *Naturalia*, 20, 213–225.
- Pombal Jr, J. P., Bilate, M., Gambale, P. G., Signorelli, L., & Bastos, R. P. (2011) A new miniature treefrog of the *Scinax ruber* clade from the Cerrado of central Brazil (Anura: Hylidae). *Herpetologica*, 67(3), 288–299.
- Proença, V., & Pereira, H.M. (2013) Comparing Extinction Rates: Past, Present, and Future. In: Levin, S.A. (Ed.), *Encyclopedia of Biodiversity (Second Edition)*. Academic Press, p. 167–176.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., & Achaz, G. (2011) ABGD, automatic barcode gap discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21(8), 1864–1877.
- R Core Team (2021) *R: A language and environment for statistical computing*. Version 3.6.2. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em <https://www.R-project.org> (acessado em 31 de Março de 2022).
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele G., & Suchard M. A. (2018) Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67(5): 901–904.
- Ridgway, R. (1886) *A nomenclature of colors for naturalists, and compendium of useful*

- knowledge for ornithologists*. Little, Brown & Company, Boston, p. 129.
- Ridgway, R. (1912) *Color standards and color nomenclature*. Ridgway, Washington, D.C., p. 43, 53 color plates.
- Rojas, R. R., Fouquet, A., Ron, S. R., Hernández-Ruz, E. J., Melo-Sampaio, P. R., Chaparro, J. C., ... Hrbek, T. (2018) A Pan-Amazonian species delimitation: high species diversity within the genus *Amazophrynella* (Anura: Bufonidae). *PeerJ*, 6, e4941.
- Ron, S. R., Duellman, W. E., Caminer, M. A., & Pazmino, D. (2018) Advertisement calls and DNA sequences reveal a new species of *Scinax* (Anura: Hylidae) on the Pacific lowlands of Ecuador. *PLoS ONE*, 13(9), e0203169.
- Scheele, B. C., Pasmans, F., Skerratt, L. F., Berger, L., Martel, A., Beukema, W., ... Canessa, S. (2019). Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science*, 363(6434), 1459–1463.
- Scheffers, B. R., Joppa, L. N., Pimm, S. L., & Laurance, W. F. (2012) What we know and don't know about Earth's missing biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(9), 501–510.
- Schlick-Steiner, B. C., Steiner, F. M., Seifert, B., Stauffer, C., Christian, E., & Crozier, R. H. (2010) Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annual Review of Entomology*, 55, 421–438.
- Schmidt, K.P. (1944) New frogs from Misiones and Uruguay. *Field Museum of Natural History, Zoology*, 29(9), 153–160.
- Segalla, M. V., Berneck, B., Canedo, C., Caramaschi, U., Cruz, C. A. G., Garcia, P. C. A., ... Langone, J. A. (2021) List of Brazilian Amphibians. *Herpetologia Brasileira*,

10(1): 121–216.

Silva, J. P. S. (2020) *Redescrição da morfologia externa e avaliação da variação morfológica do estágio larval de uma perereca Latino-Americana Scinax squalirostris (Lutz, 1925)*. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas- Ecologia e Biodiversidade), Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Universidade Federal da Integração Latino-Americana, p. 25.

Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S., Fischman, D. L., & Waller, R. W. (2004) Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306(5702), 1783–1786.

Suchard, M. A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, D. L., Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2018) Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution*, 4(1), vey016.

Sueur, J., Aubin, T., & Simonis, C. (2008). Seewave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, 18(2), 213–226.

Thomson, S. A., Pyle, R. L., Ahyong, S. T., Alonso-Zarazaga, M., Ammirati, J., Araya, J. F., ... Segers, H. (2018) Taxonomy based on science is necessary for global conservation. *PLoS Biology*, 16(3), e2005075.

Toledo, L. F., Martins, I. A., Bruschi, D. P., Passos, M. A., Alexandre, C. & Haddad, C. F. B. (2015). The anuran calling repertoire in the light of social context. *Acta Ethologica*, 18(2), 87–99.

Tollefson, J. (2019) Humans are driving one million species to extinction. *Nature*, 569(7755), 171–172.

Vacher, J. P., Kok, P. J. R., Rodrigues, M. T., Lima, J. D., Lorenzini, A., Martinez, Q., ...

- Fouquet, A. (2017) Cryptic diversity in Amazonian frogs: Integrative taxonomy of the genus *Anomaloglossus* (Amphibia: Anura: Aromobatidae) reveals a unique case of diversification within the Guiana Shield. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 112(2017), 158–173.
- Vacher, J.-P., Chave, J., Ficetola, F., Sommeria-Klein, G., Tao, S., Thébaud, C., ... Fouquet, A. (2020) Large-scale DNA-based survey of frogs in Amazonia suggests a vast underestimation of species richness and endemism. *Journal of Biogeography*, 47(8), 1781–1791.
- Vences, M., Köhler, J., Crottini, A., & Glaw, F. (2010) High mitochondrial sequence divergence meets morphological and bioacoustic conservatism: *Boophis quasiboehmei* sp. n., a new cryptic treefrog species from south-eastern Madagascar. *Bonn Zoological Bulletin*, 57(2), 241–255.
- Vieira, K. S., Oliveira, E. K. S., Vieira, W. L. S., & Alves, R. R. N. (2022) Polymorphism in a Neotropical toad species: ontogenetic, populational and geographic approaches to chromatic variation in *Proceratophrys cristiceps* (Müller, 1883) (Amphibia, Anura, Odontophrynidae). *PeerJ*, 10, e12879.
- Vittorazzi, S. E., Augusto-Alves, G., Neves-da-Silva, D., Carvalho-e-Silva, A. M. P. T., Recco-Pimentel, S. M., Toledo, L. F., ... Bruschi, D. P. (2021) Paraphyly in the giant torrent-frogs (Anura: Hylodidae: *Megaelosia*) and the description of a new genus. *Salamandra*, 57(2), 274–284.
- Wagler, J. (1830) *Natürliches System der Amphibien : mit vorangehender Classification der Säugethiere und Vögel: ein Beitrag zur vergleichenden Zoologie*. Cotta'schen, München, vi + p. 352.
- Wake, D. B., & Koo, M. S. (2018) Amphibians. *Current Biology*, 28(21), R1237–R1241.

- Watters, J. L., Cummings, S. T., Flanagan, R. L., & Siler, C. D. (2016) Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach. *Zootaxa*, 4072(4), 477–495.
- Wells, K.D. (1977) The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*, 25, 666–693.
- Wells, K. D. (2007) *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago, p. 1148.
- Young, B. E., Lips, K. R., Reaser, J. K., Ibáñez, R., Salas, A.W., Cedeño, J. R., ... Romo, D. (2001) Population Declines and Priorities for Amphibian Conservation in Latin America. *Conservation Biology*, 15(5), 1213–1223.
- Young, B. E., Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., & Boucher, T.M. (2004) *Disappearing jewels. The status of New World Amphibians*. NatureServe, Arlington, p. 53.
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P., & Stamatakis, A. (2013) A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29(22), 2869–2876.