



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO

ANDRÉ MASAHIDE GUIMARÃES TAKAZONE

ESTUDO TAXONÔMICO DE *Scinax nebulosus* (SPIX, 1824) E *Scinax constrictus* (LIMA, BASTOS E GIARETTA, 2004) (ANURA, HYLIDAE) COM BASE EM PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E ACÚSTICOS

SÃO LUÍS – MA

2015

ANDRÉ MASAHIDE GUIMARÃES TAKAZONE

ESTUDO TAXONÔMICO DE *Scinax nebulosus* (SPIX, 1824) E *Scinax constrictus* (LIMA, BASTOS E GIARETTA, 2004) (ANURA, HYLIDAE) COM BASE EM PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E ACÚSTICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal do Maranhão - UFMA.

Orientador: Dr. Luiz Norberto Weber
Linha de Pesquisa do PPGBC: Diversidade Animal e Vegetal de Áreas de Transição

SÃO LUÍS – MA

2015

Takazone, André Masahide Guimarães

Estudo taxonômico de *Scinax nebulosus* (Spix, 1824) e *Scinax constrictus* (Lima, Bastos e Giaretta, 2004) (Anura, Hylidae) com base em parâmetros morfológicos e acústicos / André Masahide Guimarães Takazone. – São Luís, 2015.

76f.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Norberto Weber.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Biodiversidade e Conservação, 2015.

1. Grupo de *Scinax rostratus* 2. Taxonomia 3. Morfometria 4. Bioacústica I. Título

CDU 597.8

ANDRÉ MASAHIDE GUIMARÃES TAKAZONE

TÍTULO DO TRABALHO: ESTUDO TAXONÔMICO DE *Scinax nebulosus* (SPIX, 1824) E *Scinax constrictus* (LIMA, BASTOS E GIARETTA, 2004) (ANURA, HYLIDAE) COM BASE EM PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E ACÚSTICOS.

A Comissão Examinadora do trabalho de defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada dia 16/04/2015 considera o candidato APROVADO.

Prof. Dr. Luiz Norberto Weber
Universidade Federal do Maranhão - UFMA
Orientador

Prof. Dr. Marcelo Felgueiras Napoli
Universidade Federal da Bahia - UFBA
1º Examinador

Prof. Dr. Nivaldo Magalhães Piorski
Universidade Federal do Maranhão - UFMA
2º Examinador

Dedico o resultado do meu esforço, em especial a Deus, presença constante em minha vida. À minha avó Julia (in memoriam) que me recebeu com muito amor tornando possível o sonho de passarmos mais tempo juntos antes de sua partida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Sérgio e Francisca, por todo amor, exemplo, apoio e incentivo incondicional e atemporal que sempre me foi dado desde o primeiro dia de vida, e que me permitiu chegar tão longe mesmo quando as coisas não estavam tão boas.

Ao meu irmão Daniel que dadas as suas limitações, em sua maneira simples e pessoal sempre foi uma inspiração para mim, provando que irmãos mais novos também podem ensinar os mais velhos.

Aos tios, tias, primos e madrinha que nem sempre puderam me auxiliar, mas sempre incentivaram com seu orgulho e torcida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Norberto Weber, pela amizade, confiança depositada em mim, pela compreensão e paciência em lidar com as minhas falhas, e pela capacidade inigualável de arrancar sorrisos mesmo quando a situação não era das melhores.

Ao Prof. Dr. Nivaldo Piorski por acompanhar todo o desenvolvimento do trabalho com correções e sugestões, e que mesmo em sua agenda interminável de compromissos, sempre se dispôs a ajudar da melhor maneira possível com a estatística.

Ao Prof. Dr. Marcelo Felgueiras Napoli pelas importantes contribuições feitas ao trabalho e por aceitar o convite de compor a banca (mesmo que para isso, tivesse que entrar em negociação de datas... rsrs).

A Prof. Dra. Gilda Vasconcelos de Andrade por me receber e “tolerar” em seu laboratório e pelos conselhos, sugestões e auxílio antes, durante e depois do mestrado.

Ao Prof. Dr. Rogério Pererira Bastos por me conceder tão gentilmente exemplares e gravações dos cantos de *Scinax constrictus*.

Ao Prof. Dr. Nadson Ressayé por todos os esclarecimentos a respeito dos testes estatísticos utilizados no trabalho.

A Sabrina Weber, ao “Conradinho” e, claro, a “Helena” (Parabéns Luiz!) por toda hospitalidade e compreensão em aturar o meu “mimimi...” durante a semana em que precisei me mudar para casa do Luiz.

Ao Sr. Conrado Weber por me ceder duas vezes seu apartamento no Rio de Janeiro para que eu pudesse realizar minhas análises tranquilamente.

A Laís (vulgo “Lalah”) e ao Bruno por me abrigarem e me aguentarem por três “looongas” semanas em Belém.

Agradeço a todos os pesquisadores do Setor de Herpetologia do Museu Nacional do Rio de Janeiro, em especial a Pedro Pinna, Natacha Nagatani, Manoela Woitovicz Cardoso e Marcos Bilate no auxílio com o material e fotografias; ao Fábio Hepp pela incomparável aula de bioacústica; a Paulo Passos, Ivan Nunes e Carlos Alberto Cruz pela companhia nos almoços e, particularmente, a José P. Pombal Jr. pela compreensão com as visitas fora de época, pelas conversas e por ceder exemplares e o áudio original do canto de *Scinax nebulosus*.

Agradeço a todos os pesquisadores do Laboratório de herpetologia, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em especial a Rafael Magalhães pelas fotos; João Victor Lacerda pelos almoços, conversas infundáveis e por todo o auxílio e, logicamente, a Paulo C. A. Garcia por toda a hospitalidade e compreensão tanto antes quanto depois de minha visita.

Aos pesquisadores do Museu de Ciências Naturais da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-MG), principalmente a Luciana Nascimento Barreto, que embora não tenha conhecido pessoalmente, foi muito gentil ao me abrir as portas da coleção sob seus cuidados e sempre muito cordial e educada em seus e-mails.

Meus agradecimentos a todos os pesquisadores do Museu Paraense Emílio Goeldi, representados nas figuras de Alexandre Missassi (de quem enchi muito o saco! Rsrs) por todo o auxílio com o material e informações da coleção, a Marcelo José Sturaro (de quem enchi ainda mais o saco! Rsrs) pelas importantes contribuições para o trabalho e pela gravação de *Scinax nebulosus* cedida, a João Fabrício Sarmento por toda a sua disponibilidade em me auxiliar, e a Ana Lúcia Prudente pela gentileza de me conceder a oportunidade de visitar o Laboratório de herpetologia.

Agradeço aos amigos da Bahia: Rogério Oliveira, Deyvid Said, Lázaro Lima, Elaine Machado e Karol Aguiar por todo o estímulo desmedido em relação ao meu mestrado, e a Bruna Iohanna pelo incomensurável apoio nos momentos mais penosos.

A turma do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação por todas as piadas e caronas, especialmente a David Barros pela ajuda com os mapas e a Clovis Júnior pelos conselhos estatísticos.

Agradeço a “Santa” Ana Lúcia por me aguentar durante dois anos invadindo sua sala com problemas, e a Larissa Rafaelle por resistir bravamente à vontade de me assassinar pelas inumeráveis dúvidas a respeito da qualificação e defesa.

E não tenho palavras que sejam suficientes para agradecer a toda a galera do Laboratório de Herpetologia e Ecologia Aplicado a Conservação (LHEAC) da Universidade Federal

do Maranhão (UFMA) por todo amparo, sensibilidade e amizade nos dois anos em que estive nesse âmbito. Mil agradecimentos ao Johnny (Alemão) pela assistência, companhia e amizade na longa trajetória do mestrado; a Antônio Fernando (o Bro!) pelas piadas (sem graça... rsrs) e por todo o companheirismo dentro e fora do laboratório; a Suzane e Brendinha por salvaram minha vida acadêmica; a Anna, Fabi, Hida, Radna e Nanny pelas incontáveis saídas e risadas; a Tayllon (Baboo) e Carlos pelas ótimas discussões (nem sempre relacionadas a herpetologia); a Natália, Karina e Rosângela (Trio da alegria) pelas gargalhadas idiotas e traumáticas.

E agradeço muito a grande Senhora Dona Júlia Guimarães, com quem ao longo dos poucos meses que pude conviver me ensinou para uma vida inteira que *“teimosia e persistência nem sempre tem significados diferentes”*. OBRIGADO!!!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
HISTÓRICO TAXONÔMICO	12
CAPÍTULO 1. Estudo taxonômico de <i>Scinax nebulosus</i> (Spix, 1824) e <i>Scinax constrictus</i> (Lima, Bastos e Giaretta, 2004) (Anura, Hylidae) com base em parâmetros morfológicos e acústicos	19
1.1 INTRODUÇÃO	20
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
1.2.1 Espécimes examinados	21
1.2.2 Características analisadas.....	21
1.2.3 Métodos de abordagem	23
1.3 RESULTADOS	26
1.3.1 Análise comparativa das populações de <i>Scinax nebulosus</i> e <i>Scinax constrictus</i>	26
1.3.2 Análise da variação geográfica de <i>Scinax nebulosus</i>	29
1.4 DISCUSSÃO	31
1.4.1 Comentários Taxonômicos.....	34
1.5 AGRADECIMENTOS	39
1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
1.7 APÊNDICE	45
1.8 LISTAS DE LEGENDAS.....	47
1.9 FIGURAS.....	49
1.10 TABELAS	59
CONCLUSÕES GERAIS	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	

INTRODUÇÃO GERAL

Dada a grande riqueza de espécies neotropicais, a taxonomia de anuros, principalmente em biomas brasileiros, necessita de estudos mais robustos, uma vez que, muitos dos atuais complexos de espécies ainda são baseados, principalmente, em estudos anteriores envolvendo poucos exemplares, com pouca da cobertura das distribuições dos táxons analisados e que em muitos casos foram delimitadas baseados em poucas evidências morfológicas, levando muitos autores a supor que haja um subestimado número de táxons reconhecidos e algumas incertezas taxonômicas (Fouquet *et al.*, 2007; Verdade & Rodrigues 2007; Cruz *et al.*, 2012; Gehara *et al.*, 2013).

Os registros de dados sobre o status de muitas espécies de anuros seguem uma abordagem morfológica descritiva, geograficamente restrita a poucas e pequenas áreas, e nesse aspecto, variações em características morfológicas qualitativas e quantitativas são úteis em indivíduos poligenéticos por mostrarem muita da plasticidade oculta em relação aos fatores ambientais (Lougheed *et al.*, 2006).

Estudos que quantifiquem e entendam a distribuição espacial de características biológicas como as proporções do corpo são de ampla relevância, uma vez que, o tamanho do corpo é uma característica altamente variável e que pode ser afetada por diversos aspectos como a idade, gênero, filogenia, ambiente e ao mesmo tempo por numerosas influências ecológicas e evolutivas e, portanto é uma propriedade fundamental em qualquer táxon por estar intimamente correlacionado com sua história de vida (Morrison & Hero, 2003; Nabil *et al.*, 2009, 2010 e 2011).

Espécies com amplas escalas geográficas latitudinais e altitudinais são modelos mais adequados de comparações morfométricas em níveis interespecíficos, por estarem expostas as diversas condições climáticas diferentes, estando sujeitas a diversos fatores que combinados resultam em muitos dos diferentes tipos de clines ou variações morfométricas encontradas inter- e intra-espécies (Ashton, 2000; Babik & Rafinski, 2000; Morrison & Hero, 2003; Bidau *et al.*, 2011).

Descobrir os padrões geográficos de variação fenotípica é uma abordagem para examinar a diversificação de populações e espécies e compreender os processos microevolutivos que promovem a diversificação, gerando hipóteses sobre adaptação a diferentes habitats, separação histórica e isolamentos geográficos (Martin & McKay, 2004; Lougheed *et al.*,

2006; Bidau *et al.*, 2011).

Dentro desse contexto, o gênero *Scinax* Wagler, 1830 configura-se como um grupo de taxonomia difícil, com a classificação duvidosa de alguns táxons e várias incertezas taxonômicas resultantes do seu grande número de espécies crípticas, alta variabilidade morfológica intraespecífica, baixa divergência morfológica entre espécies e que em muitos casos ocupam extensos espaços ecológico-geográficos representando, na definição de Heyer & Reid (2003), ‘complexos’ de espécies.

Scinax nebulosus Spix, 1824 é um exemplo dentro do gênero, por ser um anuro arborícola que se distribui do sudeste da Venezuela, através das Guianas e da região do baixo Amazonas até Alagoas no nordeste do Brasil, com registros de ocorrência também para a Amazônia Boliviana (Frost, 2014). Compõe o grupo de *S. rostratus* com outras nove espécies, dentre as quais está *S. constrictus*, uma espécie de menor porte que, ao contrário do restante do grupo, teria distribuição geográfica relacionada ao bioma Cerrado (Lima *et al.*, 2004).

Analisando diferentes populações historicamente identificadas como *S. nebulosus* e *S. constrictus*, nós verificamos a presença de espécimes de posição taxonômica incerta, pois a utilização de características diagnósticas, conhecidas para diferenciar as duas espécies, não demonstram ser suficientes para suas distinções. O presente trabalho tem como objetivo testar as seguintes hipóteses: (1) há variação geográfica nos padrões das características de morfologia externa, morfométricas e de canto de anúncio dos espécimes adultos das populações de *S. nebulosus*, com áreas de intergradação dessas características e (2) *S. constrictus* corresponde a sinônimo júnior de *S. nebulosus*.

HISTÓRICO TAXONÔMICO

O GÊNERO *SCINAX* WAGLER, 1830

Wagler (1830) propôs a criação do gênero *Scinax* baseado na análise de três espécies: *Hyla aurata* Wied, 1821, *Hyla varilosa* Spix, 1824 e *Hyla bipunctata* Spix, 1824.

As espécies do gênero eram então reconhecidas por possuírem:

Corpo e focinho longos, cabeça pequena; dedos das mãos estreitos, cilíndricos, terminados em discos globulosos, sem membrana; com metade dos dedos dos pés ligados por uma membrana, com exceção ao(s) primeiro(s) dedo(s); além de carecer de uma vesícula inflável.

Características que o autor comparou às de *Phyllomedusa* e que renderam a designação genérica de “Schnellfrosch – sapos rápidos” ao gênero *Scinax* (Caramaschi, 2004).

Atualmente, o gênero *Scinax* está contido na família Hylidae, subfamília Hyalinae e tribo Dendropsophini (Faivovich *et al.*, 2005), e é constituído por 114 espécies que se distribuem do leste do México ao sul da Argentina e Uruguai e nas ilhas de Trinidad e Tobago e Santa Lucia (Frost, 2014).

Segundo Faivovich (2002), muitas das atuais espécies contidas dentro do gênero *Scinax* foram descritas recentemente, estando as demais espécies incluídas e designadas durante muito tempo dentro do antigo grupo *rubra* do gênero *Hyla*.

O grupo de espécies de *Hyla rubra*, descrito originalmente em 1933 para quatro espécies da América Central (*H. Boulengeri*, *H. rubra*, *H. alata* e *H. culex*) era constituído pelos ditos hílideos de pernas curtas e, levou o nome de sua primeira espécie reconhecida, *Hyla rubra* Laurenti, 1768 (Dunn, 1933; Cochran, 1955; Frost, 2015), e representa um dos mais complicados agrupamentos, por ser muito bem distribuído e um dos mais variáveis de todos os grupos de espécies de pererecas da América do Sul (Cochran & Goin, 1970).

Segundo Cochran (1955), os aspectos gerais do grupo não eram complicados de reconhecer, entretanto, suas características específicas eram extremamente difíceis de distinguir devido à sua considerável instabilidade. Nesse contexto, desde a percepção de Dunn (1933) a respeito do reconhecimento do grupo de espécies de *Hyla rubra*, diversos trabalhos adicionaram ou interpretaram de modo diferente as espécies que viriam a ser

alocadas no gênero *Scinax*.

Lutz (1954) definiu em poucas palavras o grupo ou ciclo de *Hyla catharinae* e que, posteriormente, chagaria a ser relacionado com as espécies descritas por Dunn (1933), ainda que de modo tênue, nas publicações de Bokermann (1964, 1967).

Essa relação estabelecida por Bokermann (1964, 1967) foi utilizada por Duellman (1972a, 1972b) para criar aquilo que ele chamou de complexo de *Hyla rubra*, abrangendo não só as espécies dos grupos *rubra* e *catharinae*, mas também o que ele chamou de grupo *rostrata* e citou como grupos *boulengeri*, *parkeri*, *strigilata* e *acuminata*.

Lutz (1973), em uma publicação divergente das de Bokermann (1964, 1967) e Duellman (1972a, 1972b), conduziu para a separação total das espécies em dois complexos: o complexo de *H. rubra*-*H. x-signata* e o complexo de *H. catharinae*, e que segundo a autora não teriam relação entre si.

Fouquette & Delahoussaye (1977), analisando o complexo de espécies de *Hyla rubra* proposto por Duellman (1972a, 1972b), notaram que as espécies teriam espermatozoides com “cauda-dupla” e, abalizados por isso, e também fundamentados na combinação de caracteres apresentados nos trabalhos de Léon (1969) e Duellman (1970), sugeriram a transferência das espécies do complexo *rubra* para um gênero próprio, chamado *Ololygon* Fitzinger, 1843. Os autores ainda designaram a separação do referido complexo em cinco grupos de espécies: *Ololygon rubra*, *O. catharinae*, *O. rostrata*, *O. staufferi* e *O. x-signata*. Posteriormente seriam acrescentados os grupos de espécies de *O. perpusilla* (Peixoto, 1986, 1987) e *O. rizibilis* (Andrade & Cardoso, 1987).

No entanto, alguns autores como Almeida & Cardoso (1985) não reconheceram o gênero *Ololygon*, sugerindo a inclusão das espécies do complexo de *H. rubra* em outros gêneros como, por exemplo, em *Garbeana* Miranda-Ribeiro, 1926.

Pombal & Gordo (1991), seguindo os diversos argumentos contra o reconhecimento de *Ololygon*, mencionaram a precedência do gênero *Scinax*, fazendo com que Duellman & Wiens (1992) revalidassem o gênero *Scinax* com base na análise de 40 características e agrupassem todas as espécies em sete grupos: *rubra*, *rostrata*, *catharinae*, *x-signata*, *perpusilla*, *rizibilis* e *staufferi*. Os grupos de *S. rizibilis* e *S. x-signata* seriam mais tarde transferidos para os grupos de *S. catharinae* e *S. rubra*, respectivamente (Pombal, 1955a, 1955b). Na mesma publicação ainda foram sugeridas por Duellman & Wiens (1992) três

sinapomorfias de suporte à monofilia do gênero *Scinax*:

(1) região loreal deprimida; (2) discos das mãos truncados, mais largos do que longos; (3) membrana reduzida entre o primeiro e o segundo dedos (ausente ou reduzida para a borda ao longo da margem interior do segundo dedo) em relação à membrana dos outros dedos.

Uma década depois, Faivovich (2002) em análise cladística, baseada em hipóteses filogenéticas e caracteres morfológicos, propôs a reorganização do gênero, sugerindo que os grupos denominados de *rubra* e *staufferi* seriam pobremente suportados. O autor criou dois clados: O clado de *S. catharinae* que abrangeria todos os representantes do grupo de *S. catharinae*, alguns indivíduos do grupo de *S. staufferi* (*S. agilis* e *S. berthae*) e um único representante do grupo de *S. perpusilla*; e o clado de *S. ruber*, contendo todos os representantes do grupo de *S. rostrata*, do grupo de *S. rubra* e três espécies do grupo de *S. staufferi* (*S. squalirostris*, *S. staufferi* e *S. fuscomarginatus*).

Faivovich *et al.* (2005) validaram a monofilia de *Scinax* com base em análise cladística usando dados moleculares e propuseram ainda cinco sinapomorfias morfológicas:

(1) membrana entre os dedos I e II, que não se estendem além do tubérculo subarticular do dedo I, (2) capacidade de dobrar o dedo I, (3) a capacidade de dobrar o artelho I, (4) origem do músculo peitoral abdominalis através de tendões bem definidos (5) músculo abdominalis pectoralis com sobreposição ao músculo oblíquo externus.

Nesse trabalho, baseado em análises moleculares, Faivovich *et al.* (2005) manteve os clados de *S. catharinae* e de *S. ruber*. No entanto, reforçou a relação do grupo de *S. perpusilla* com o clado de *S. catharinae*, desfez os agrupamentos de *S. rubra* e de *S. staufferi* deixando 45 espécies não associadas a nenhum grupo dentro do clado *ruber*, e adicionou as espécies do grupo de *S. uruguayus* (sensu Kolenc *et al.*, 2004) ao clado *ruber*.

Posteriormente à publicação de Faivovich *et al.* (2005), foram descritas dez novas espécies de *Scinax*. Destas dez espécies, nove foram incluídas dentro do clado *ruber* – *S. cabralensis* (Drummond *et al.*, 2007), *S. cretatus* (Nunes & Pombal, 2011), *S. imbegue* (Nunes *et al.*, 2012), *S. iquitorum* (Moravec *et al.*, 2009), *S. juncae* (Nunes & Pombal, 2010), *S. rogerioi* (Pugliese *et al.*, 2009), *S. tigrinus* (Nunes *et al.*, 2010), *S. tymbamirim* (Nunes *et al.*, 2012) – e uma espécie foi incluída no grupo *rostratus* – *S. constrictus* (Lima *et al.*, 2004).

O CLADO *RUBER*

O clado *ruber* criado primordialmente com base nas análises feitas por Faivovich (2002), reforçado posteriormente, pelo diagnóstico molecular de Faivovich *et al.* (2005) e publicações recentes de descrição de novas espécies, seria, então, um dos conjuntos que abrangeria parte das espécies do gênero *Scinax*, sendo composto por 67 espécies, 55 destas não atribuídas a nenhum grupo de espécies dentro do clado *ruber* e outras 12 divididas em dois grupos – 10 espécies no grupo de *S. rostratus*, e duas espécies no grupo de *S. uruguayus* (Faivovich *et al.*, 2005; Frost, 2014).

O monofiletismo do clado é suportado com base em uma única sinapomorfia morfológica: (1) tubo anal posicionado acima da margem inferior da nadadeira inferior nos girinos (Faivovich, 2002; Faivovich *et al.*, 2005).

O grupo de Scinax rostratus

O grupo de espécies de *Scinax rostratus*, um dos grupos incluídos no clado *ruber* do gênero *Scinax*, foi reconhecido pela primeira vez (sendo ainda intitulado como *Hyla rostrata*) por Duellman (1972b), o qual apontou 15 características morfológicas compartilhadas por seis espécies (*Hyla rostrata*, *H. proboscídea*, *H. Boulengeri*, *H. garbei*, *H. epacrorrhina* e *H. egleri*) para conferir tal status.

Fouquette & Delahoussaye (1977) julgaram o grupo de *S. rostratus* um agrupamento válido apoiado no formato dos espermatozoides que possuíam, segundo eles, uma cabeça de diâmetro praticamente uniforme ao longo do comprimento, aparentado um aspecto ou formato torpediforme ou de cigarro que diferia dos espermatozoides observados para os demais grupos.

Foi, no entanto, com os trabalhos de Faivovich (2002) e Faivovich *et al.* (2005) que ficou esclarecido o devido diagnóstico do grupo, que teria como sinapomorfias morfológicas:

(1) Justaposição das margens interiores dos vômeres; (2) sobreposição da placa ótica da crista parótica devido a uma larga placa ótica; (3) placa cartilaginosa não fenestrada do esquamoal com cartilagem oblíqua; (4) tubérculo pontiagudo no calcanhar; (5) ausência de músculo extensor curto distal no dígito II; (6) presença de músculo extensor curto distal no dígito I;

(7) descontinuidade das margens laterais com a parte posterior do disco oral;
 (8) terceira fileira de dentes labiais posteriores colocados sobre braço labial, com redução da terceira fileira a um quarto do comprimento da segunda fileira; (9) ausência de esporas queratinizadas atrás da bainha da mandíbula; (10) a posição rebaixada da cabeça durante o canto.

Atualmente, o grupo de espécies de *S. rostratus* é composto pelas seguintes dez espécies (Frost, 2014): *S. Boulengeri* (Cope, 1887), *S. constrictus* (Lima et al. 2004), *S. garbei* (Miranda-Ribeiro, 1926), *S. kennedyi* (Pyburn, 1973), *S. jolyi* (Lescure & Marty, 2000), *S. nebulosus* (Spix, 1824), *S. pedromedinae* (Henle, 1991), *S. proboscideus* (Brongersma, 1933), *S. sugillatus* (Duellman, 1973) e *S. rostratus* (Peters, 1863).

***Scinax nebulosus* (Spix, 1824)**

Scinax nebulosus é uma espécie do clado *ruber*, do grupo *rostratus*, que foi descrita por Spix em 1824, sob a designação de *Hyla nebulosa*.

Desde sua descoberta, a espécie foi caracterizada e nomeada diversas vezes, sendo reconhecida como *Hyla cynocephala* (Duméril & Bibron, 1841) para espécimes da Guiana; como *Hyla egleri* (Lutz, 1968) para indivíduos coletados em Belém do Pará, Brasil; foi redescrita como *Oloolygon egleri* (Fouquette & Delahoussaye, 1977), bem como *Oloolygon nebulosus* (Hoogmoed & Gruber, 1983) e *Scinax nebulosa* (Duellman & Wiens, 1992); tendo o seu status atual definido sob o nome de *Scinax nebulosus* (Köhler & Böhme, 1996).

Spix (1824), ao mencionar a espécie, referiu-se a ela como sendo da região de Tefé, município brasileiro do interior do estado do Amazonas. Contudo, sua descrição foi muito compendiada e pobre em ilustrações. Somada a essa definição, o autor não designou um holótipo para a espécie, os tipos depositados no museu de Munique foram perdidos durante a Segunda Guerra Mundial (Hoogmoed & Gruber, 1983; Glaw & Franzen, 2006).

Hoogmoed & Gruber (1983), ao se utilizarem dos caracteres diagnósticos fornecidos por Spix (1824) perceberam semelhanças entre *Hyla nebulosa* e uma espécie descrita por Lutz (1968) denominada *Hyla egleri* e, baseados nesta observação, propuseram a sinonimização de *H. egleri* à *H. nebulosa*, e a redesignação do holótipo de *H. egleri* como neótipo de *S. nebulosus*, referida à época como *Oloolygon nebulosus*.

Baseando-se nas distintas descrições feitas por Spix (1824), Lutz (1968), Hoogmoed & Gruber (1983) e Duellman & Wiens (1992), *S. nebulosus* seria caracterizada por possuir a pele no dorso em tons castanho-amarelados ou marrom-oliva com marcas marrom escuras, amarelas ou verde claras, marcada por pequenos tubérculos prevalentes, especialmente na cabeça; uma fileira indistinta de pequenos tubérculos na borda da maxila inferior; um ou dois pequenos tubérculos no calcanhar; perfil reptiliano, com focinho pequeno e estreito; e com superfície posterior das coxas mosqueado de marrom escuro, amarelo ou verde claro sem formação de barras; e eventualmente, região gular dos machos reprodutivos branca e podendo apresentar pontuações marrons.

***Scinax constrictus* (Lima, Bastos & Giaretta, 2004)**

Scinax constrictus Lima, Bastos & Giaretta, 2004, também é uma espécie do grupo *rostratus*, porém, diferentemente de sua congênere *S. nebulosus*, esta foi descrita recentemente, ou seja, dentro de um gênero já consolidado e, portanto, não passou pelas distintas mudanças de designação do gênero.

Segundo Lima *et al.* (2004) *S. constrictus* se constitui como a menor espécie dentro do grupo *rostratus*, e é diagnosticada pela seguinte combinação de características:

(1) Comprimento rostro-cloacal dos machos de 20,8-28,4mm, fêmeas 28,2-35,6mm; (2) narinas protuberantes; (3) saco vocal pigmentado; (4) tubérculos presentes na pálpebra superior, calcanhar e mandíbula; (5) narinas não projetadas no contorno da cabeça em vista dorsal; (6) constrição dermal dorsolateral nos ombros em adultos; (7) dois tubérculos separados acima da cloaca em fêmeas; (8) e discreto flap anal nos machos.

Ainda segundo Lima *et al.* (2004) *S. constrictus* divergiria do restante do grupo, incluindo *S. nebulosus*, por conta de sua distribuição geográfica atípica, que se sucede no bioma Cerrado, principalmente, nos municípios de Palmeiras (localidade-tipo), Guapó, Jussara, Mossâmedes, Pirenópolis, Pontalina, Porangatu e Uirapuru, todos no Estado de Goiás (Lima *et al.*, 2004), além de Porto Alegre de Tocantins, no Estado do Tocantins (Vaz-Silva *et al.*, 2006).

Manuscrito para apreciação

Este capítulo apresenta o manuscrito intitulado “**Estudo taxonômico de *Scinax nebulosus* (Spix, 1824) e *Scinax constrictus* (Lima, Bastos e Giaretta, 2004) (Anura, Hylidae) com base em parâmetros morfológicos e acústicos**” que se destina à submissão para publicação no periódico científico **Zootaxa**. Os resultados aqui discutidos, assim como a discussão e conclusões derivadas, decorrem do desenvolvimento da presente dissertação. Os critérios de redação e formatação seguem as normas deste periódico, os quais se encontram disponíveis na íntegra nos ANEXOS desta dissertação.

Estudo taxonômico de *Scinax nebulosus* (Spix, 1824) e *Scinax constrictus* (Lima, Bastos & Giaretta, 2004) (Anura, Hylidae) com base em parâmetros morfológicos e acústicos

ANDRÉ MASAHAIDE GUIMARÃES TAKAZONE^{1,3} & LUIZ NORBERTO WEBER²

¹*Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Universidade Federal do Maranhão, Campus Universitário do Bacanga, Avenida dos Portugueses, 65080-040. São Luís, Maranhão, Brasil.*

²*Universidade Federal do Sul da Bahia, Instituto Sosígenes Costa da Humanidade, Artes e Ciência, BR367, Km 10. Rodovia. Porto Seguro-Eunápolis. 45810-000. Porto Seguro, Bahia, Brasil. E-mail: luiznorbertow@gmail.com*

³*Corresponding author: andretakazone@gmail.com*

RESUMO: O gênero *Scinax* Wagler, 1830 (Hylidae, Hylinae, Dendropsophini) é representado por pouco mais de 100 espécies, tendo tido diversas acepções e sendo descrito durante muito tempo sob categorias taxonômicas diferentes antes de se consolidar como um gênero. Diversos trabalhos têm sugerido a redescrição de diversas espécies em grupos de espécies, e sabendo que o gênero é marcado pela elevada similaridade e conservação morfológica, alguns autores apontaram que espécies como *S. nebulosus* e *S. constrictus* poderiam fazer parte de um complexo de espécies em virtude das dificuldades em discrimina-las apenas com base em suas descrições originais. Os objetivos do presente trabalho foram os de analisar, identificar e caracterizar padrões espaciais de variação morfológica e acústica em amostras populacionais de *S. nebulosus* e *S. constrictus* ao longo de suas distribuições geográficas e comparar aspectos da morfologia externa, do tamanho e da forma corpórea e do canto de anúncio de adultos de *S. nebulosus* e de *S. constrictus* para fornecer diagnóstico mais consistente para estes táxons. Nas análises comparativas utilizamos métodos multivariados como a análise de variância multivariada não paramétrica (PERMANOVA), análise dos componentes principais (PCA) e análises das variáveis canônicas (CVA). Nossos resultados revelaram que *S. nebulosus* e *S. constrictus* são espécies que apresentam baixa variabilidade morfológica e bioacústica (canto de anúncio). Tais, diferenças não foram

consideradas diagnósticas o suficiente para permitir a distinção segura entre estas espécies, de modo que as diferenças encontradas devem ser atribuídas a variações intrapopulacionais. Nossa conclusão é a de que *S. constrictus* deve ser considerada sinónimo júnior de *S. nebulosus*.

PALAVRAS CHAVE: grupo de *Scinax rostratus*; taxonomia; morfometria; canto de anúncio.

INTRODUÇÃO

O gênero *Scinax* Wagler, 1830, é representado por pouco mais de 100 espécies descritas, as quais ocupam áreas desde o México até a Argentina e Uruguai, além das ilhas de Trinidad e Tobago e Santa Lucia (Frost 2014). O gênero é marcado por elevado número de espécies descritas, algumas delas consideradas problemas taxonômicos por terem amplas distribuições ecológico-geográficas e relações pouco consistentes entre as taxas de diversificação e evolução morfológica. Muitos destes táxons têm levado alguns autores a propor revisões com a contínua e crescente descoberta de novas espécies (Pombal 1995; Caramaschi & Cardoso 2006; Brasileiro *et al.* 2007; Cardoso & Pombal 2010; Nunes *et al.* 2010; Pombal *et al.* 2011; Nunes & Pombal 2011; Nunes *et al.* 2012; Lourenço *et al.* 2013; Sturaro & Peloso 2014).

Scinax nebulosus Spix, 1824, pertencente ao grupo de espécies de *S. rostratus* (*sensu* Faivovich 2002; Faivovich *et al.* 2005), é um anuro arborícola de ampla distribuição no Brasil, abrangendo áreas da Bacia Amazônica e dos estados do Maranhão e Ceará.

Outra espécie do grupo, *Scinax constrictus* Lima, Bastos & Giaretta, 2004, ocorre no bioma Cerrado e, segundo sua descrição original, assemelha-se muito à sua congênere *S. nebulosus*, diferindo-se por características de sua morfologia externa, entre as quais: comprimento rostro-cloacal, presença (*S. constrictus*) ou ausência (*S. nebulosus*) de flap anal, presença (*S. constrictus*) de fileira de pequenos tubérculos na borda da maxila inferior, e parâmetros acústicos do canto de anúncio (Lima *et al.* 2004).

Analisando-se diferentes populações historicamente identificadas como *S. nebulosus*, nós verificamos a presença de espécimes de posição taxonômica duvidosa, pois a utilização de características diagnósticas, conhecidas para diferenciar as duas

espécies, aliada à extensa distribuição geográfica de *S. nebulosus*, torna a diagnose de *S. constrictus* muito imprecisa.

Constituem-se como objetivos do presente estudo: (1) Analisar, identificar e caracterizar padrões espaciais de variação morfológica e acústica em amostras populacionais de *S. nebulosus* e *S. constrictus* ao longo de suas distribuições geográficas. (2) Comparar aspectos da morfologia externa, do tamanho e da forma corpórea e do canto de anúncio de adultos de *S. nebulosus* e de *S. constrictus* para fornecer diagnóstico mais consistente para estes táxons.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes examinados:

Analisamos 333 espécimes oriundos de amostras populacionais previamente reconhecidas como *Scinax nebulosus* (holótipo e 32 parátipos inclusos) e 174 de *S. constrictus* (holótipo e 19 paratopótipos inclusos), incluindo machos e fêmeas procedentes de 73 localidades distintas e abrigados nas seguintes coleções herpetológicas brasileiras (lista completa no Apêndice 1): coleção do Laboratório de Herpetologia e Ecologia Aplicada à Conservação, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão (HUFMA); coleção do Setor de Herpetologia, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (MNRJ); coleção do Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais (UFMG); coleção do Museu de Ciências Naturais, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais (MCNAM); coleção do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará (MPEG); coleção Zoológica da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás (ZUFG).

Características analisadas:

Todos os espécimes analisados foram medidos para 12 distâncias morfométricas com a utilização de paquímetro eletrônico digital (precisão de 0,05mm) e com o auxílio de um microscópio estereoscópico, totalizando 6084 medidas realizadas.

As medidas dos exemplares foram tomadas do lado esquerdo do corpo e excepcionalmente do lado oposto em caso de mutilação, e todas as medidas foram registradas em milímetros seguindo Heyer *et al.* (1990) e Napoli & Caramaschi (2005). As seguintes medidas com abreviações foram tiradas: CRC (comprimento rostro-cloacal), CC (comprimento da cabeça), LC (largura da cabeça), DO (diâmetro do olho), DON (distância olho-narina), DT (diâmetro do tímpano), DIO (distância inter-orbital), DIN (distância internasal), DNF (distância narina-ponta do focinho), CCX (comprimento da coxa), CTB (comprimento da tíbia) e CP (comprimento do pé). Foram utilizadas algumas proporções corporais em adição as medidas (CCX/CRC; CO/CRC; LC/CC; DON/CC; DO/CC; DT/CC; DT/DO; DIN/LC; DIN/CC). As fórmulas palmar e plantar seguiram Savage & Heyer (1967) conforme modificado por Myers & Duellman (1982).

Levando-se em consideração que a tomada de algumas medidas pudesse ser influenciada pelas condições de fixação dos animais, sempre que se percebeu que a má fixação de algum exemplar influenciava na tomada de determinada medida, o indivíduo em questão foi assinalado e posteriormente excluído das análises estatísticas.

Padrões de desenho foram avaliados individualmente, um por vez e para as seguintes características: (1) padrão de desenho da cabeça, (2) padrão de desenho do dorso, (3) coloração das superfícies superior e interna da coxa e (4) coloração das superfícies superior e interna da tíbia. Nos espécimes em que o desenho se encontrava parcialmente descolorado ou danificado somente foram consideradas as características que se apresentaram nítidas, e se preferiu a definição de padrões de desenho (contraste dos tons claros e escuros do dorso e demais regiões anatômicas) e não de cor, uma vez que de maneira geral, os espécimes variaram de marrom ao cinza em tons forte ou esmaecidos dependentes da variação nos métodos de fixação ou como resultado do tempo e das condições de preservação de cada lote.

Com base nas características diagnósticas apontadas por Lima *et al.* (2004), foram verificadas as seguintes características morfológicas: (1) presença ou ausência de prega dérmica recobrindo a cloaca dos machos (flap anal); (2) fórmula da membrana interdigital dos artelhos. Baseado em observações pessoais feitas com as séries tipo de *S. nebulosus* e *S. constrictus* também adicionamos (3) o padrão de disposição de tubérculos ao longo da região dorsal do corpo e dos membros; e (4) o formato das almofadas nupciais como possíveis caracteres diferenciais.

A sexagem dos indivíduos foi realizada principalmente por meio de observação direta de caracteres sexuais secundários, como presença de fendas vocais, saco vocal (inflado pela injeção de ar com uma seringa), almofadas nupciais nos machos e o maior comprimento rostro-cloacal das fêmeas.

Para as análises acústicas foram examinadas 25 cantos de anúncio de espécimes de *S. nebulosus* e 20 cantos de *S. constrictus*, provenientes das duas localidades-tipo. Além disso, tais cantos também foram comparados com 20 cantos de anúncio de espécimes de *S. nebulosus* gravados no município de São Luís, Maranhão, Brasil. Os cantos de anúncio foram gravados em um gravador digital DAT Tascam, acoplado a um microfone Sennheiser ME66. As gravações foram digitalizadas com frequência de entrada de 44.1 kHz e resolução de 16 bits, no padrão mono. Foram aferidos seis parâmetros acústicos: (1) duração do canto (s), (2) número de notas, (3) duração de cada nota (s), (4) número de pulsos por nota, (5) duração de cada pulso (s) e (6) frequência dominante (Hz). As análises temporais foram realizadas no software Avisoft SAS Lab Lite para Windows e as análises espectrais foram realizadas no software Sound Ruler Acoustic Analysis (versão 0.9.6.0). Os sonogramas foram produzidos com 256 pontos, *overlap* de 75% e na função *flat top*. A terminologia utilizada na descrição dos cantos segue (Gerhardt & Huber 2002) e também foram consideradas as informações dos cantos de anúncio descritas para cada espécie.

Métodos de Abordagem

Partindo da premissa de que as características diagnósticas conhecidas não são suficientes para a distinção entre as populações de *S. nebulosus* e *S. constrictus*, foram realizadas novas comparações entre as séries-tipo e exemplares de amostras populacionais compreendidas nos limites da distribuição conhecida para as duas espécies, objetivando dessa maneira, responder se as variações morfológicas (características externas), morfometria e os parâmetros espectrais e temporais do canto de anúncio seriam capazes de sustentar a posição taxonômica corrente das duas espécies.

Procuramos responder qual seria a variação dentro destas populações e se mais espécies estariam representadas nas amostras populacionais examinadas. Procedemos às análises da morfologia externa seguindo procedimentos modificados a partir de Vanzolini (1970), Napoli & Caramaschi (1999) e Encarnação (2010), sumarizadas na

seguinte sequência: (1) análise da morfologia externa das amostras populacionais grandes ($n \geq 10$ espécimes) e (2) análise da morfologia externa das amostras populacionais pequenas ($n < 10$ espécimes). Para tanto, buscamos por possíveis hiatos morfológicos ou variações e gradientes geográficos que constituíssem evidências indiretas de isolamento reprodutivo de populações ou grupos de populações locais, pelo uso de métodos descritivos de análise para dados de desenho e morfométricos. Esta noção de variação geográfica é fundamental, já que populações podem ou não manter fluxo gênico entre si, o que poderia resultar em isolamentos geográficos e processos de especiação.

Quanto à determinação do sexo, nas principais análises realizadas neste estudo, utilizou-se como amostragem apenas indivíduos na fase adulta, o que permitiu mais facilmente essa identificação. Nesse contexto, adotou-se como fator determinante a capacidade produtiva associada à presença de caracteres sexuais secundários, sendo considerados adultos somente os indivíduos que apresentaram um CRC mínimo determinado a partir das médias (resultante da subtração dos desvios padrão) (Verdade & Rodrigues 2007) e retirando das análises estatísticas espécimes menores que 23,6 mm de CRC para machos e 30,1 mm para fêmeas.

Para identificar se haveria diferenças significantes entre sexos e espécies, realizou-se uma Análise de Variância Multivariada Não-Paramétrica (PERMANOVA). Esta análise teve como intuito determinar se haveria diferenças significantes entre as médias das duas espécies estudadas baseado em todas as distâncias morfométricas simultaneamente, e se optou por teste não paramétrico porque os dados brutos obtidos, mesmo transformados, violaram a premissa de distribuição normal multivariada. As matrizes de dados log-transformadas foram utilizadas como variáveis dependentes, sexos e espécies como variáveis categóricas e como medida de distância a Distância Euclidiana. A significância foi computada por permutação dos membros de cada sexo e espécie por meio de 10.000 replicações, através do software PAST (versão 1.97).

A análise dos componentes principais (PCA) “dependente e independente do tamanho” foi usada como análise de ordenação exploratória sobre as matrizes de variáveis morfométricas de *S. nebulosus* e *S. constrictus* a fim de investigar o grau de variação morfológica entre as duas espécies e buscar por padrões morfológicos não claramente observados durante a inspeção visual dos espécimes e das análises descritivas dos dados.

Nessa análise, por ser uma técnica de ordenação que reduz a dimensionalidade de dados multivariados, os conjuntos de variáveis relacionadas foram agrupados em componentes capazes de mostrar as tendências de variação dos conjuntos de dados, em outras palavras, utilizou-se a PCA para criar algumas poucas variáveis-sintéticas não correlacionadas, cada uma composta pelas 12 variáveis originais mensuradas dos exemplares de cada espécie (Gotelli & Ellison 2011). As matrizes originais de cada espécie foram transformadas em logaritmos naturais e os autovetores e autovalores associados obtidos a partir da matriz de variância-covariância. Os *loadings* representaram as correlações entre as variáveis originais e os escores. Os escores foram projetados no espaço reduzido do primeiro componente principal contra os eixos mais representativos da variação total de cada espécie. As análises foram geradas pelo software Statistica (versão 8.0).

Uma vez confirmadas quais amostras populacionais representavam uma única espécie, buscamos por padrões gerais de variação morfológica ao longo de suas distribuições geográficas e explicações para suas variações. Assim, optamos por usar Unidades Geográficas Operacionais (UGO) para sumarizar possíveis variações encontradas ao longo dos gradientes latitudinais e longitudinais. Em virtude da ampla distribuição dos exemplares de *S. nebulosus* e *S. constrictus*, cada UGO foi definida com base em critérios morfoclimáticos (BIOMAS) e geomorfológicos (BACIAS) por abrangerem, em resumo, a variação climática, topográfica e pluviométrica, aos quais cada população estaria sujeita. Somente machos adultos foram considerados nestas análises, uma vez que, as fêmeas adultas se encontraram numericamente mal representadas entre parátipos e paratopótipos e, embora melhor representadas para as demais amostras populacionais, tiveram uma distribuição mais restrita quando comparadas aos machos.

A exemplo da comparação entre as espécies, uma nova PERMANOVA foi realizada com o intuito de determinar se haveria diferenças significantes entre as médias dos grupos analisados, respondendo assim, se haveria ou não diferenças morfométricas entre as UGOs propostas.

A fim de estudarmos os padrões multivariados de variação do tamanho e da forma corpórea, comparar as variações dentro de cada UGO e responder se a variação teria relação com algum aspecto geográfico, primeiramente, buscamos por padrões de discriminação e variação clinal entre todos os grupos pelas projeções dos escores dos componentes principais da PCA da morfologia das espécies (variável dependente)

contra os gradientes latitudinais e longitudinais (variável independente). Por último, adotou-se uma Análise de Variáveis Canônicas.

A Análise de Variáveis Canônicas (CVA) por ser um método estatístico de classificação que tem por objetivo o de agrupar objetos similares em classes identificáveis e interpretáveis, que possam ser distinguidas das classes vizinhas, é bastante apropriada para estudos taxonômicos, por permitir investigar o grau de variação morfométrica, maximizando a separação entre e dentro grupos ou morfoespécies (definidos a priori) e indicando quais variáveis que poderiam contribuir mais para a discriminação entre as UGOs (Reis et al. 1990; Gotelli & Ellison 2011).

Ressalta-se que em função das diversidades amostrais, a realização de análises comprobatórias é indispensável visando avaliar organismos cuja distribuição da frequência de caracteres, relacionados ao tamanho, apresente variações dentro das amostras, que possam levar a interpretações errôneas da discriminação, considerando as mudanças nas médias dos valores dos caracteres (Corti et al. 1988; Reis et al. 1990). Sendo assim, é desejável que o efeito do “tamanho” seja removido de cada variável original, analisado em separado e a análise de variáveis canônicas efetuada sobre os valores das variáveis de “forma” (obtidas após a remoção do efeito do tamanho de cada variável original), resultando em fatores canônicos que pudessem ser considerados como variação em “forma”.

Nas análises ‘sem correção’ do tamanho as matrizes originais de distâncias morfométricas foram transformadas em logaritmos naturais, enquanto que nas análises ‘com correção’ as matrizes originais foram transformadas pelo método alométrico de Burnaby através do software PAST (1.97). Os autovetores e seus autovalores associados foram obtidos a partir de matrizes de variância-covariância e os *loadings* representam as correlações entre as variáveis originais e os escores. Os escores e elipses de confiança (95%) foram projetados no espaço do primeiro eixo contra os eixos mais representativos da variação total. As análises com e sem a correção do efeito do tamanho foram geradas pelo software Statistica (versão 8.0).

RESULTADOS

Análise comparativa das populações de *Scinax nebulosus* e *S. constrictus*

Foram observadas as séries-tipo e amostras populacionais de *S. nebulosus* e *S. constrictus* de oito estados brasileiros (Figura 2). Consideradas as latitudes, a localidade mais ao norte para as populações de *S. nebulosus* foi o município de São João de Baliza (1°N), estado de Roraima, e a mais ao sul foi o município de Parecis (12°S), estado de Rondônia; a população de *S. constrictus* mais ao norte foi a do município de Rio Largo (9°S), no estado de Alagoas, e a mais ao sul foi a do município de Pontalina (17°S), estado de Goiás. Com base nesses levantamentos as espécies foram simpátricas nos estados de Tocantins e Alagoas e apresentaram “gaps” de distribuição geográfica no estado de Alagoas e entre os estados de Tocantins e Goiás (Figura 2).

Todos os indivíduos relacionados às séries-tipo e a amostras populacionais analisadas de *S. nebulosus* e *S. constrictus*, caracterizaram-se por terem cabeças ligeiramente mais longas do que largas, focinho alongado e subelíptico em vista dorsal e pontudo e deprimido em vista lateral; corpos magros e elípticos com tubérculos ao longo da superfície dorsal do corpo, em maior proporção na cabeça e nos membros anteriores, com as superfícies dorsais dos braços e pernas com poucos tubérculos; superfícies ventrais lisas; um ventre granular e uma fileira indistinta de pequenos tubérculos na borda inferior da maxila, não se encontrando padrão de distribuição, uma vez que, muitas dessas projeções dérmicas parecem se desgastar com o tempo e com o método de fixação; uma pequena dobra dérmica (flap anal) foi visualizada recobrimdo a cloaca de todos os exemplares (Figura 3) e nas comparações entre fêmeas e machos, percebemos que as diferenças mais claras entre sexos são o tamanho maior (comprimento rosto-cloacal e porte) das fêmeas em relação aos machos ($F_{CRCnebulosus}=199$ e $p < 0,0001$; $F_{CRCconstrictus}=150,1$ e $p < 0,0001$, valores de p corrigidos pelo teste de Bonferroni) (Tabela 2).

De maneira geral, os exemplares apresentaram padrão dorsal consistindo entre um marrom a cinza com manchas situadas nas regiões interocular, lateral e sacral mais escuras que o restante do dorso, composta por um triângulo truncado invertido na região interocular, normalmente uniforme, em alguns casos, margeado por um contorno mais claro, podendo ou não se fundir a uma faixa retilínea escura que arqueia horizontalmente a região sacral. Lateralmente, todos os espécimes maculados apresentaram áreas dorsolaterais escuras com aspectos de parênteses invertidos saindo das regiões pós-orbitais, superfície superior dos braços e pernas com listras irregulares mais escuras atingindo geralmente os dígitos externos, e as partes ocultas da coxa e tíbia

301 creme com manchas de padrão marmoreado variando de marrom claro a preto (Figura
302 3).

303 A análise dos padrões de forma e distribuição das manchas no dorso do corpo
304 mostrou a existência de alta variabilidade com padrões graduais de intensidade das
305 manchas e estados discretos em padrões dorsais gerais, triângulos interoculares e marcas
306 sacrais, as quais as frequências não foram diferentes entre machos e fêmeas das duas
307 espécies. Dentro dessa variação, nós encontramos dois padrões gerais de desenho no
308 exame das amostras populacionais de *S. nebulosus* e *S. constrictus*: um morfótipo com
309 dorso maculado e outro de dorso uniforme e imaculado (Figura 6). Espécimes
310 maculados foram mais comuns (83%) do que espécimes imaculados (45%), no entanto,
311 estes padrões de desenho não se mostraram exclusivos para populações locais ou
312 grupos específicos de populações locais e não evidenciaram padrões geográficos
313 definidos ao longo de sua distribuição que apontassem para qualquer separação (Tabela
314 1).

315 Ainda como parte das comparações morfológicas entre *S. nebulosus* e *S.*
316 *constrictus*, é possível notar que os resultados da PERMANOVA convergem para a
317 existência de diferenças significativas, considerando todas as 12 variáveis
318 morfométricas simultaneamente, entre as amostras separadas entre as duas espécies
319 ($F=15,51$; $p < 0,0001$, valor de p corrigido pelo teste de Bonferroni). No entanto, as
320 medidas corpóreas das amostras populacionais de *S. nebulosus* e *S. constrictus* (Tabela
321 2) e suas proporções (Tabela 3) não demonstraram hiatos morfométricos entre as
322 mesmas, assim como a projeção dos escores individuais no espaço reduzido dos dois
323 primeiros eixos (PC1 vs. PC2) gerado pela análise dos componentes principais (PCA)
324 sobre a matriz de variáveis morfométricas com e sem a influência do tamanho, produziu
325 gráficos de dispersão que não evidenciaram padrões morfométricos singulares entre
326 espécies e as diferentes amostras populacionais (Figura 4).

327 O primeiro componente (PC1) para a PCA “sem a correção” do tamanho
328 explicou aproximadamente 57,3% da variância total e teve *loadings* com valores
329 negativos para todas as variáveis, o que reflete, variações no tamanho total das amostras
330 (Humphries *et al.* 1981). O primeiro componente (PC1) da PCA “com a correção do
331 tamanho”, por sua vez, explicou 20% da variância total e indicou diferenças nas
332 proporções do corpo entre as diferentes amostra pelos *loadings* mais altos das variáveis
333 “comprimento da coxa” (CCX) e “comprimento da tíbia” (CT) (Tabela 5).

A análise das vocalizações de anúncio das duas amostras populacionais de *S. nebulosus*, com as de *S. constrictus* revelou que os parâmetros temporais e espectrais dos cantos de anúncio são similares, com a mesma estrutura de canto com notas multipulsionadas, um número médio parecido de notas e pulsos, cantos com modulação de frequência e apenas com algumas diferenças associadas às amplitudes da frequência dominante entre as amostras populacionais investigadas (Tabela 4).

Utilizada a abordagem de taxonomia integrativa (Dayrat 2005), a combinação das análises descritivas das variáveis corpóreas de desenho, morfométricas e a comparação dos parâmetros acústicos do canto de anúncio para as localidades-tipo realizadas nesse trabalho, não trouxeram evidências indiretas de que haja duas espécies ou populações isoladas reprodutivamente das demais e, portanto, passaremos então a assumir que todas representam populações de *S. nebulosus*.

Análise da variação geográfica de *Scinax nebulosus*

Consideradas todas as amostras populacionais representativas, sugerimos quatro Unidades Geográficas Operacionais (Domínios Amazônico, dos Cerrados, das Caatingas e dos Mares de Morros) baseados em critérios morfoclimáticos (Ab'Sáber 2003) e três (Amazonas; Rio Tocantins e Costeira do Atlântico Sul) consideradas a partir da distinção das principais bacias, segundo o critério de Otto Pfafstetter (Silva *et al.* 2008), nas quais as amostras se distribuíram (Figura 5). Da mesma maneira que nas comparações entre as espécies, a PERMANOVA também apontou para existência de diferenças significativas ($F_{\text{biomas}}=10,46$; $p < 0,0001$; $F_{\text{bacias}}=8,49$; $p < 0,0001$) nas médias da maioria das UGOs analisadas, rejeitando a hipótese nula de que não haveria diferenças entre as mesmas. A exceção foi a UGO das Caatingas que não apresentou diferenças significativas para os demais grupos geográficos e, portanto, foi reagrupada a UGO dos Mares de Morros da qual foi estatisticamente mais parecida ($p=1$).

Espécimes com padrão dorsal maculado do corpo foram mais frequentes e ocorreram em todas as UGOs para biomas e bacias (média de aproximadamente 91% em todas as UGOs dos dois agrupamentos geográficos), e mantiveram-se frequentes ao longo das direções de variação norte-sul e oeste leste. O padrão imaculado, também ocorreu em todas as UGOs, mas em baixa frequência (médias de 46,3% e 51,3% dos espécimes, respectivamente, para biomas e bacias).

Dadas às análises dos componentes principais das 12 variáveis morfométricas considerando todas as amostras populacionais de machos adultos, sem a correção do tamanho, o escores individuais do eixo de maior explicação (PC1 = 57,3%) projetados contra os gradientes latitudinal e longitudinal apresentaram associação significativa (Latitude $r^2=0,0215$ e $p=0,005$; Longitude $r^2=0,0162$ e $p=0,015$), mas não geraram nenhum padrão espacial discernível de variação das amostras populacionais em grupos geográficos. Encontramos um leve aumento no “tamanho” dos machos de *S. nebulosus* em função da latitude no sentido norte-sul e outro leve aumento em função da longitude no sentido leste-oeste (Figura 7) e que são coincidentes com a estatística descritiva de cada umas das UGOs analisadas (Tabelas 6 e 7). Nas análises com a correção do tamanho (PC1 = 20,1%), apenas a longitude apresentou associação significativa ($r^2=0,0638$ e $p=0,000001$) com as variações na “forma” do corpo mudando no sentido oeste-leste (Figura 7).

Da análise de variáveis canônicas realizada com os dados sem correção do tamanho, usando a matriz de distâncias morfométricas de machos adultos, foram extraídos 2 eixos canônicos significativos (critério de Wilk's $p<0,05$) para a análise baseada nos diferentes biomas e 2 eixos canônicos significativos (critério de Wilk's $p<0,05$) para as UGOs formadas entre as três principais bacias nas quais as amostras se distribuíram. Nas UGOs propostas por biomas, o primeiro eixo canônico (CV1) explicou aproximadamente 78% da variação total e teve maior contribuição das seguintes variáveis em ordem decrescente: diâmetro do olho, largura da cabeça, comprimento da tíbia, comprimento da coxa e a distância interocular. Nas UGOs propostas por bacias, o primeiro eixo canônico explicou 56% da variação total com maior contribuição das variáveis: distância do olho a narina, distância interocular, comprimento da cabeça, distância entre as narinas e largura da cabeça. A projeção dos escores individuais no espaço reduzido dos dois primeiros eixos canônicos (CV1 vs. CV2) tanto para biomas quanto para bacias não revelou tendência a discriminação para nenhuma das UGOs propostas (Figuras 8 e 9)

A análise de variáveis canônicas realizada com os dados morfométricos corrigidos para o tamanho gerou, novamente, dois eixos significantes, respectivamente para as análises entre biomas e entre bacias. O primeiro eixo canônico (CV1) explicou 81% e 68% da variação total e teve como variáveis de maior contribuição à largura da cabeça e diâmetro do olho (*loadings* de 0,44 e 0,42) entre os diferentes biomas, e comprimento do pé e da cabeça (*loadings* de 0,59 e 0,41) entre as diferentes bacias

analizadas. O segundo eixo canônico (CV2) explicou 18 e 32% da variação e teve a distância entre as narinas (*loading* de 0,48) como variável de maior contribuição para biomas e o comprimento da cabeça (0,49) para bacias. A projeção dos escores individuais no espaço reduzido destes eixos (CV1 vs. CV2) também resultou em forte sobreposição entre as UGOs (Figuras 8 e 9). Os coeficientes padronizados e *loadings* de todas as variáveis canônicas com e sem a correção do tamanho são apresentados na Tabela 8.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir da comparação de indivíduos de *Scinax nebulosus* e *S. constrictus* procedentes de distintas localidades indicaram a existência de uma baixa variabilidade morfológica, com a dificuldade de diagnosticar as populações estudadas e referi-las, seguramente, a qualquer uma das duas espécies reconhecidas baseado somente em suas características diagnósticas.

Nessa análise, caracteres atualmente utilizados para diferenciar e reconhecer as duas espécies não foram úteis nas amostras, e características como padrão de manchas dorsais, presença de tubérculos abaixo da maxila, fórmula da membrana dos artelhos e presença de uma pequena dobra dérmica recobrindo a cloaca de machos são questionáveis, na medida em que foram observados em todos os exemplares de ambas as espécies.

Nas descrições dos cantos de anúncios de *S. nebulosus*, Duellman (1972), Hödl (1977), Duellman & Pyles (1983) e De La Riva *et al.* (1994), referiram-se em cada um de seus trabalhos de maneiras diferentes em relação ao número de notas, a média de duração destas notas, as taxas de pulsos por segundo e apresentaram escalas diferentes de amplitudes para as frequências dominantes de cada um dos cantos analisados. No entanto, a análise das vocalizações de indivíduos de *S. nebulosus* e *S. constrictus* feita por esse trabalho não indicou a existência de variações muito grandes para os parâmetros analisados ao longo de suas áreas de distribuição-tipo, e mais do que isso apontam para a similaridade sobre vários parâmetros analisados nesse trabalho.

É possível deduzir que as diferenças diagnósticas descritas para *S. constrictus* por Lima *et al.*, 2004, tenham sido, possivelmente, baseadas no exame de séries limitadas de *S. nebulosus*, na ausência de comparações morfológicas e bioacústicas com a série tipo de *Hyla egleri*, produto do tempo e dos procedimentos de fixação de alguns

exemplares e resultado da falta de algumas informações nas descrições realizadas por Lutz (1973), Dullman (1972), Hödl (1977) e De La Riva *et al.* (1994) com os dados utilizados nas comparações de Lima *et al.* (2004).

Diferente de outros trabalhos, como as revisões taxonômicas do complexo de espécies de *Scinax alter* (Nunes *et al.* 2012), da variação geográfica de *Dendropsophus rubicundulus* (Napoli & Caramaschi 1999), das redescrições de *Proceratophrys cristiceps* (Cruz *et al.* 2012), revalidação de *Pseudopaludicola ameghini* (Pansonato *et al.* 2013), e da descrição de *Pseudopaludicola atragula* (Pansonato *et al.* 2014), os dados obtidos neste estudo para análises de morfologia externa, morfometria e bioacústica não separam táxons, e apesar da vasta distribuição amostral dos exemplares, as conclusões taxonômicas assemelham-se muito a revisão taxonômica das populações de *Allobates olfersioides* e *Hypsiboas bischoffi* de Florestas Atlânticas brasileiras (Verdade & Rodrigues 2007; Marcelino *et al.* 2009) e espécimes de *Dendrobates tinctorius* para a Guiana e proximidades (Wollenberg *et al.* 2006).

Em relação às variáveis morfométricas, embora tenham apresentado diferenças estatísticas entre as espécies e os grupos analisados, as variações nas medidas foram mínimas o que dificultou na discriminação segura desses indivíduos. As projeções das diversas amostras populacionais geraram alta sobreposição de escores, ao mesmo tempo em que evidenciaram graus variados de discriminação parciais entre as diferentes amostras populacionais, indicando padrões complexos de variação morfométrica ao longo da distribuição de *S. nebulosus*. Espécimes mais a oeste e sul (Amazônico e do Cerrado) tiveram “tamanhos” maiores quando comparadas a espécies de outros conjuntos de ecossistemas, no entanto, tiveram menores variações na “forma” do corpo quando comparados as espécimes distribuídos mais a leste (Mares de Morros).

Os presentes dados sobre variação mostraram diferenças entre os grupos, com pequenas variações morfométricas associadas ao tamanho e forma corpórea, principalmente, de características da cabeça quando consideradas as amostras populacionais nos extremos de distribuição geográfica e morfoclimáticos. Nossos dados de diferenciação geográfica sugerem que o ambiente e as condições climáticas correlacionam-se de alguma maneira com o tamanho e forma total da cabeça de *S. nebulosus*. No entanto, sem uma divergência morfológica externa, e levando em consideração que as discriminações entre amostras populacionais intermediárias são baixas, é possível supor que as variações estejam ocorrendo a nível interespecífico.

Alterações climáticas e fragmentação do habitat têm sido invocadas como pressões chave afetando os diferentes níveis de biodiversidade (Opdam & Wascher 2004). E vários estudos com anuros têm demonstrado respostas das espécies a estes fatores, complementados pelas respostas genéticas adaptativas das populações. Estes estudos de variação geográfica têm apontado para variações nas características morfológicas em anfíbios e, tem-se observado que a diferenciação morfológica em muitas espécies tem envolvido principalmente diferenças nas proporções do corpo, as quais em muitos casos são fenotipicamente plásticas e mostram variação clinal paralela as variações nas mudanças climáticas (Babik & Rafinski, 2000).

As proporções do corpo são características fundamentais e diversificados sobre um conjunto de contextos fisiológicos, ecológicos e comportamentais de muitas espécies, e as causas e consequências da variação geográfica na morfologia são igualmente complexas e nem sempre bem definidas. Trabalhos como os de Smirnov (1992) que expõe que o desenvolvimento larvar afeta o ritmo e a sequência de ossificação cranial em anuros, os dados de Wassersug & Hoff (1982) e Emerson (1985 e 1986) que encontraram que os hormônios que controlam a metamorfose também são os que controlam o desenvolvimento cranial em anuros, e as análises de Márquez-García et al. (2009) que sugerem que as características da cabeça variam independentemente do tamanho do corpo, têm apontado que as medidas da cabeça são funcionalmente características importantes em anuros, sendo que as diferenças nas taxas de crescimento poderiam resultar em alterações nesta característica e, portanto, os diferentes ambientes aos quais as populações estão sujeitas poderiam induzir variações morfométricas simplesmente pelo controle das taxas totais de crescimento e diferenciação.

Vale ressaltar que a escassez de literatura, que forneçam maiores informações sobre assuntos como a história natural e a filogeografia, tanto da espécie quanto do grupo rostratus como um todo, se apresenta como um sério obstáculo à obtenção de melhores condições para sua diferenciação. Acreditamos, tanto quanto muitos outros trabalhos com espécies afins, que estudos moleculares e filogeográficos poderiam resolver padrões filogenéticos nesta espécie e oferecer maiores evidências que por sua vez seriam de grande importância para enriquecer as discussões sobre esta hipótese. O que se sabe, é que no momento não se tem informações conclusivas de que a distribuição de *S. nebulosus* tenha relação com qualquer bacia hidrográfica, ao mesmo tempo em que não se pode afirmar que nenhum rio, elevação topográfica, ou domínio morfoclimático seja um obstáculo geográfico relevante.

Comentários Taxonômicos

Scinax nebulosus (Spix, 1824)

Hyla cynocephala Duméril & Bibron, 1841

Hyla egleri Lutz, 1968

Ololygon egleri, Fouquette & Delahoussaye, 1977

Hyla cyanocephala, Duellman, 1977

Ololygon cynocephala, Duellman *In* Frost, 1985

Scinax nebulosa, Duellman & Wiens, 1992

Scinax nebulosus, Köhler & Böhme, 1996

Scinax constrictus, Lima, Bastos & Giaretta, 2004

Holótipo. Não designado na publicação original, embora na mesma encontre-se uma figura em vista dorsal (prancha X, Figura 4). Os sintipos foram considerados perdidos por Hoogmoed & Gruber (1983), que ao se utilizarem dos caracteres diagnósticos fornecidos por Spix (1824) perceberam semelhanças entre *Hyla nebulosa* e uma espécie descrita por Lutz (1968) denominada *H. egleri* e, baseados nesta observação, propuseram a sinonimização de *H. egleri* com *H. nebulosa*, e a redesignação do holótipo de *H. egleri* como neótipo (MNRJ 4055) de *Scinax nebulosus*.

Localidade-tipo. Município de Belém do Pará, Brasil, segundo Lutz (1968).

Diagnose. Espécie incluída no gênero *Scinax* por apresentar membrana entre os dedos I e II, que não se estendem além do tubérculo subarticular do dedo I, capacidade de dobrar o dedo I, capacidade de dobrar o artelho I, origem do músculo peitoral abdominalis através de tendões bem definidos, músculo abdominalis pectoralis com sobreposição ao músculo oblíquo externus e 83 transformações em genes de proteínas nucleares, mitocondriais e ribossomais (Faivovich *et al.* 2005). Pertencente ao clado *ruber* por apresentar tubo anal posicionado acima da margem inferior da nadadeira inferior nos girinos (Faivovich *et al.* 2005). Incluído no grupo de *S. rostratus* por apresentar justaposição das margens interiores dos vômeres; sobreposição da placa ótica da crista parótica devido a uma larga placa ótica; placa cartilaginosa não fenestrada do

esquamoal com cartilagem oblíqua; tubérculo pontiagudo no calcanhar; ausência de músculo extensor curto distal no dígito II; presença de músculo extensor curto distal no dígito I; girinos com uma descontinuidade nas margens laterais com a parte posterior do disco oral; terceira fileira de dentes labiais posteriores colocados sobre braço labial, com redução da terceira fileira a um quarto do comprimento da segunda fileira; ausência de esporas queratinizadas atrás da bainha da mandíbula; e adultos com uma posição rebaixada da cabeça durante o canto (Faivovich *et al.* 2005).

Redescrição dos espécimes adultos. Descrição baseada no neótipo (MNRJ 4055) de *Scinax nebulosus*. Cabeça ligeiramente mais longa do que larga (0,91 LC/CC); com focinho alongado e subelíptico em vista dorsal e pontudo e deprimido em vista lateral; narinas não projetadas no contorno da cabeça em vista dorsal e observáveis apenas em vista lateral, não terminais; maxila superior se projetando ligeiramente sobre a maxila inferior; canto rostral distinto e curvo, com região loreal fracamente visível em vista dorsal e côncava entre os olhos e as narinas; tímpano (circular a oval) e prega supra timpânica evidentes; dois pequenos conjuntos de dentes vomerianos localizados entre as coanas; língua ligeiramente cordiforme, livre atrás; saco vocal subgular, único; fendas vocais presentes no assoalho da boca e em posição posterolateral; antebraços hipertrofiados; dedo III mais longo que os demais ($I < II \sim IV < III$); membrana interdigital vestigial entre os dedos II e III, e III e IV, ausente entre os dedos I e II; almofadas nupciais presentes, pouco desenvolvidas; tubérculo metacarpal externo cordiforme; tubérculo metacarpal interno oval; tubérculos subarticulares arredondados; fórmula plantar I 3-3 II 1-2 III 1-2 IV 2-1 V; artelho IV mais alongado que os demais ($I < II < V \sim III < IV$); tubérculo metatarsal interno arredondado; tubérculo metatarsal externo com metade do tamanho do tubérculo interno; tubérculos supranumerários discretos nos dedos e artelhos; discos adesivos mais largos do que longos nos dedos e artelhos; tubérculo calcâneo proeminente.

Comparação com outras espécies. *Scinax nebulosus* difere de suas congêneres do clado *S. catharinae* por possuir tubo anal posicionado acima da margem inferior da nadadeira inferior nos girinos (Gomes *et al.* 2014). Difere das demais espécies do clado *S. ruber* por apresentar justaposição das margens interiores dos vômeres; sobreposição da placa ótica da crista parótica devido a uma larga placa ótica; placa cartilaginosa não fenestrada do esquamoal com a cartilagem oblíqua; tubérculo pontiagudo no calcanhar;

ausência de músculo extensor curto distal no dígito II; presença de músculo extensor curto distal no dígito I; descontinuidade das margens laterais com a parte posterior do disco oral; terceira fileira de dentes labiais posteriores colocados sobre braço labial, com redução da terceira fileira a um quarto do comprimento da segunda fileira; ausência de esporas queratinizadas atrás da bainha da mandíbula (Faivovich *et al.* 2005; Gomes *et al.* 2014). Dentro do grupo de *S. rostratus* difere de *S. boulengeri* pelo tamanho menor (CRC de 26 mm para machos e 33,5 mm para fêmeas de *S. nebulosus*; CRC de 41,1 mm para machos e 52,8 mm para fêmeas de *S. boulengeri*; León 1969; Duellman 1972), pela coloração do dorso em vida (maculada de marrom escuro à preto em *S. nebulosus*; maculado de verde a preto em *S. boulengeri*; Duellman 1972), coloração da superfície posterior das coxas em vida (creme com maculado variando de marrom escuro a preto para *S. nebulosus*; amarelo ou verde claro, com barras verticais pretas ou azuis escuras para *S. boulengeri*; Duellman 1972) e por diferenças no canto de anúncio (frequência dominante de 3381 Hz, duração do canto de 170 ms com 3 a 10 notas para *S. nebulosus*; 2840 Hz, 350 ms e 1 nota por canto para *S. boulengeri*; León 1969). Difere de *S. garbei* pelo tamanho menor (CRC de 26 mm para machos e 33,5 mm para fêmeas de *S. nebulosus*; 42,8 mm para machos e 46,3 mm para fêmeas *S. garbei*; Duellman 1972); pela coloração da superfície posterior das coxas em vida (creme com maculado variando de marrom escuro a preto em *S. nebulosus*; amarelo ou laranja, com barras marrons ou pretas em *S. garbei*; Duellman 1972); e pelo canto de anúncio (duração do canto de 170 ms com 3 a 10 notas por canto em *S. nebulosus*; 690 ms com uma única nota em *S. garbei*; Duellman 1970). Difere de *S. proboscideus* pelo tamanho menor (CRC de 26 mm para machos e 33,5 mm para fêmeas de *S. nebulosus*; 39,8 mm para machos e 37 mm em uma única fêmea de *S. proboscideus*; Duellman 1972), pela composição dos tubérculos da região dorsal (prevalentes em maior proporção na cabeça e nos membros anteriores em *S. nebulosus*; formam uma marca em formato de M prevalentemente na região escapular; Duellman 1972), pelo formato do focinho em vista dorsal (alongado e subelíptico em *S. nebulosus*; alongado e ligeiramente triangular em *S. proboscideus*; Duellman 1972), pela coloração da superfície posterior das coxas em vida (creme com maculado variando de marrom escuro a preto em *S. nebulosus*; amarelas com barras verticais marrons em *S. proboscideus*; Duellman 1972) e pelo canto de anúncio (composto por 3 a 10 notas e uma frequência dominante de 3381 Hz para *S. nebulosus*; com 1 a 3 notas e uma frequência dominante 2012 Hz em *S. proboscideus*; Duellman 2001). De *S. rostratus* pelo tamanho menor (CRC de 26 mm para machos e 33,5 mm

para fêmeas de *S. nebulosus*; 45,7 mm para machos e 48 mm para fêmeas de *S. rostratus*; Duellman 1972) pela disposição de tubérculos (superfície dorsal com presença de tubérculos prevalentes em maior proporção na cabeça e nos membros anteriores, presença de uma fileira de tubérculos na margem inferior da maxila e presença de tubérculos pontiagudos no calcanhar de *S. nebulosus*; lisa na superfície dorsal e sem tubérculos na maxila e no calcanhar de *S. rostratus*; Duellman 1972), coloração da superfície posterior das coxas em vida (creme com maculado variando de marrom escuro a preto em *S. nebulosus*; laranja ou amarelo escuro com barras verticais marrom escuras; Duellman 1972), pela coloração do saco gular em vida (branca a creme em *S. nebulosus*; mais escurecida em *S. rostratus*) e por diferenças no canto de anúncio (frequência dominante 3381 Hz, com uma duração de 170 ms em *S. nebulosus*; 920 Hz e duração de 690 ms em *S. rostratus*; Duellman 2001). De *S. jolyi* pelo tamanho menor (CRC de 26 mm para machos e 33,5 mm para fêmeas de *S. nebulosus*; 37,7 mm para machos e 41,85 mm para fêmeas de *S. jolyi*; Lescure & Marty 2001), pela disposição de tubérculos (presentes na maxila inferior de *S. nebulosus*; ausente na maxila inferior de *S. jolyi*; Lescure & Marty 2001) e pela estrutura do canto de anúncio (canto pulsado sem estrutura harmônica e sidebands em *S. nebulosus*; canto de anúncio com harmônicos e estrutura pulsionada em *S. jolyi*; Lescure & Marty 2001). Difere de *S. pedromedinae*, principalmente, pelo tamanho maior das fêmeas (CRC de 26 mm para machos e 33,5 mm para fêmeas de *S. nebulosus*; 26,4 mm para machos e 29,4 mm para fêmeas; Duellman & Wiens 1993), pela disposição de tubérculos (presentes na margem da maxila inferior de *S. nebulosus*; pouco evidentes em *S. pedromedinae*; Duellman & Wiens 1993) e pelo canto de anúncio (duração do canto de 170 ms em *S. nebulosus*; 90 a 100 ms em *S. pedromedinae*; Duellman & Wiens 1993). De *S. kennedyi* pelo tamanho menor (CRC de 26 mm para machos e 33,5 mm para fêmeas de *S. nebulosus*; 33 mm para machos e 37,3 mm para fêmeas de *S. kennedyi*; Pyburn 1973), pela disposição de tubérculos (presença de uma fileira na margem da maxila inferior de *S. nebulosus*; ausência na maxila inferior de *S. kennedyi*; Pyburn 1973), pela coloração da superfície posterior das coxas em vida (creme com maculado variando de marrom escuro a preto em *S. nebulosus*; laranja em *S. kennedyi*; Pyburn 1973) e pelo canto de anúncio (com uma frequência dominante de 3381 Hz e duração de 170 ms em *S. nebulosus*; 1200 Hz e duração de 1770 ms *S. kennedyi*; Pyburn 1973). Difere de *S. sugillatus* pelo tamanho menor (CRC de 26 mm para machos e 33,5 mm para fêmeas de *S. nebulosus*; 39,9 mm para machos e 45,5 mm para fêmeas de *S. sugillatus*; Duellman 1973) e pelo canto de

anúncio (frequência dominante de 3381 Hz, duração de 170 ms e 3 a 10 notas por canto para *S. nebulosus*; 2023 Hz, duração de 390 ms e 1 a 2 notas por canto para *S. sugillatus*; Duellman 1973).

Dimorfismo sexual. Fêmeas maiores e mais robustas que os machos. Estatística descritiva de fêmeas e machos de *Scinax nebulosus* com as 12 distâncias morfométricas obtidas nesse trabalho são apresentadas na Tabela 2. Os machos apresentam fendas vocais e saco vocal médio, por vezes pigmentado, que não são observados nas fêmeas.

Girino. O girino de *Scinax nebulosus* foi descrito por De Sá *et al.* (1997) e redescrito por Gomes *et al.* (2014).

Vocalização. Vocalização de espécimes de *Scinax nebulosus* da localidade-tipo eram até então desconhecidas. A Tabela 4 apresenta dados comparativos de parâmetros acústicos analisados neste trabalho. Dos 45 cantos de anúncio analisados, 5 cantos foram oriundos de 1 espécime de *S. nebulosus* do município de Belém do estado do Pará, 20 cantos foram analisados para 4 indivíduos de *S. nebulosus* do município de São Luís do estado do Maranhão e 20 cantos obtidos de 4 espécimes de *S. constrictus* do município de Palmeiras no estado de Goiás. Os cantos de anúncio variaram de 0,09 a 0,22 s de duração, cada canto com 6 a 13 notas multipulsionadas e duração entre notas de 0,001 a 0,104 s. O número de pulsos variou de 3 a 10 pulsos. Os cantos apresentaram modulação de frequência com a frequência dominante variando de 2325,5 Hz até 4048,2 Hz, sem estrutura harmônica e sidebands devido à natureza pulsada do canto.

Colorido em vida. 23 exemplares (HUFMA1753 à HUFMA 1775) de *Scinax nebulosus* dos municípios de São Luís e Alcântara, ambos do estado do Maranhão foram analisados. Os espécimes apresentaram dorso com coloração de fundo marrom claro com manchas situadas na região dorsal variando de marrom esverdeado a preto, compostas por um triângulo truncado invertido situado na região interocular, quase ligado a uma faixa que arqueia horizontalmente sua região sacral e com áreas escapulares com aspectos de parênteses invertidos saindo das regiões pós-orbitais. Superfícies superior dos braços e pernas com listras irregulares de mesma coloração das manchas do dorso atingindo geralmente os dígitos externos, e as partes ocultas da coxa

e tíbia de coloração creme com manchas de padrão marmoreado variando de marrom escuro a preto.

Colorido em preservativo. A cor de fundo varia de marrom ao cinza em tons mais fortes ou esmaecidos, em alguns casos, como o resultado dos métodos de fixação e o resultado do tempo e das condições de preservação de cada lote. As manchas normalmente mantém a coloração dorsal exibida em vida, no entanto, tornam-se indistintas quando a coloração dorsal de fundo se intensifica em marrom escuro.

Distribuição geográfica. Até o presente trabalho, *S. nebulosus* se distribuía do sudeste da Venezuela, através das Guianas e da região do baixo Amazonas até o estado de Alagoas no nordeste do Brasil, com registros de ocorrência também para a Amazônia Bolivina (Frost, 2014). Com este trabalho, sugere-se que a distribuição de *S. nebulosus* seja expandida, abrangendo as regiões de Cerrado dos estados de Tocantins e Goiás no Brasil. O mapa com a distribuição de todos os espécimes examinados neste estudo é apresentando na Figura 3.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos aos curadores e responsáveis que abriram as portas das coleções para visitas e/ou concederam empréstimo de material: José P. Pombal Jr., Paulo C. A. Garcia, Luciana Barreto Nascimento, Ana Lúcia Prudente, Rogério Pereira Bastos. Aos pesquisadores que cederam gravações: Rogério Pereira Bastos e Marcelo José Sturaro. A Marcelo Napoli pelos contribuições a escrita do artigo. Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). A FAPEMA (Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão) pelo suporte financeiro. E ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 703 Babik, W. & Rafinski, J. (2000). Morphometric differentiation of the moor frog (*Rana*
704 *arvalis* Nilss.) in Central Europe. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary*
705 *Research*, 38, 239–247.
- 706 Brasileiro, C. A., Haddad, C. F. B., Sawaya, R. J. & Martins, M. (2007). A new and
707 threatened species of *Scinax* (Anura: Hylidae) from Queimada Grande Island,
708 southeastern Brazil. *Zootaxa*, 1391, 47–55.
- 709 Caramaschi, U. & Cardoso, M. C. S. (2006). Taxonomic status of *Hyla campossebarai*
710 Bokermann, 1968 (Anura: Hylidae). *Journal of Herpetology*, 40(4), 549–552.
- 711 Cardoso, M. W. & Pombal Jr, J. P. (2010). A new species of small *Scinax* Wagler, 1830
712 (Amphibia, Anura, Hylidae) of the *Scinax ruber* clade from Cerrado of central Brazil.
713 *Amphibia-Reptilia*, 31 (2010), 411–418.
- 714 Corti, M., Thorpe, R. S., Sola, L., Bordini, S. & Cataudella, S. (1988). Multivariate
715 morphometrics in aquaculture: a case study of six stocks of common carp, *Cyprinus*
716 *carpio* from Italy. *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Science*, 45, 1548–1554.
- 717 Cruz, C. A. G., Nunes, I. & Juncá, F. A. (2012). Redescription of *Proceratophrys*
718 *cristiceps* (Müller, 1883) (Amphibia, Anura, Odontophrynidae), with description of two
719 new species without eyelid appendages from northeastern Brazil. *South American*
720 *Journal of Herpetology*, 7(2), 110–122.
- 721 Dayrat, B. (2005) Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean*
722 *Society*, 85, 407–415.
- 723 De La Riva, I., Márquez, R & Bosch, J. (1994). Advertisement calls of Bolivian species
724 of *Scinax* (Amphibia, Anura, Hylidae). *Bijdragen tot de Dierkunde*, 64(2), 75–85.
- 725 De Sá, R., Wassersug, R. & Kehr, A. I. (1997). Description of tadpoles of three species
726 of *Scinax* (Anura: Hylidae). *Herpetological journal*, 7, 13–17.
- 727 Duellman, W.E. (1970). Identity of the South American hylid frog *Garbeana garbei*.
728 *Copeia*, 1970(3), 534–538.
- 729 Duellman, W. E. (1972). South American frogs of the *Hyla rostrata* group (Amphibia,
730 Anura, Hylidae). *Zoologische Mededelingen Leiden*, 47, 177–192.
- 731 Duellman, W.E. (1973). Description of new hylid frogs from Colombia and Ecuador.
732 *Herpetologica*, 29(3), 219–227.
- 733 Duellman, W.E. (2001). *Hylid Frogs of Middle America*. The Society for the Study of
734 Amphibians and Reptiles, 1158pp.
- 735 Duellman, W. E. & Pyles, R. A. (1983). Acoustic resource partitioning in anuran
736 communities. *Copeia*, 3, 639–649.
- 737 Duellman, W.E. & Wiens, J.J. (1993). Hylid frogs of the genus *Scinax* Wagler, 1830, in
738 Amazonas Ecuador and Peru. *Occasional Papers of the Museum of Natural History*,
739 *University of Kansas*, 153, 1–57.
- 740 Emerson, S. B. (1985). Skull shape in frogs correlations with diet. *Herpetologica*, 41,
741 177–188.

- 742 Emerson, S. B. (1986). Heterochrony and frogs: the relationship of a life history trait to
743 morphological form. *American Naturalist*, 127, 167–183.
- 744 Encarnação, L. C. (2010). *Reavaliação do status taxonômico de Dendropsophus*
745 *elegans* (Wied-Neuwied, 1824) (Amphibia: Anura: Hylidae). Dissertação de Mestrado.
746 Salvador, UFBA. 91 pp.
- 747 Faivovich, J. (2002). A cladistics analysis of *Scinax* (Anura: Hylidae). *Cladistics*, 18,
748 367–393.
- 749 Faivovich, J.; Haddad, C. F. B.; Garcia, P. C. A.; Frost, D. R.; Campbell, J. A. &
750 Wheeler, W. C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special
751 reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of The*
752 *American Museum of Natural History*, 294, 1–240.
- 753 Frost, D. R. (2014). *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 5.6
754 (9 de Março de 2014). Electronic Database accessible at
755 <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of
756 Natural History, New York, USA.
- 757 Gerhardt, H. C. (1998). Acoustic signals of animals: recording, field measurements,
758 analysis and description. In: Hopp, S. L., Owren, M. J. & Evans, C. S. (Eds.), *Animal*
759 *acoustic communication*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 1–25.
- 760 Gomes, M. R., Alves, A. C. R. & Peixoto, O. L. (2014). O girino de *Scinax nebulosus*
761 (Amphibia, Anura, Hylidae). *Ilheringia, Série Zoologia*, 104(2), 184–188.
- 762 Gotelli, N. J. & Ellison, A. M. (2011). *Princípios de estatística em ecologia*, Artmed.
763 528 pp.
- 764 Hammer, O., Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics
765 Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1),
766 1–9.
- 767 Heyer, W. R., Rand, A. S., Cruz, C. A. G., Peixoto, O. L. & Nelson, C. E. (1990). Frogs
768 of Boracéia. *Arquivos de Zoologia*, 31(4), 231–410.
- 769 Hoogmoed, M. S. & Gruber, U. (1983). Spix and Wagler type specimens of reptiles and
770 amphibians in the Natural History Museum in Munich (Germany) and Leiden (The
771 Netherlands). *SPIXIANA*, 319–415.
- 772 Hoogmoed, M. S. & Avila-Pires, T. C. S. (2012) Inventory of color polymorphism in
773 populations of *Dendrobates galactonotus* (Anura: Dendrobatidae), a poison frog
774 endemic to Brazil. *Phyllomedusa*, 11(2), 95–115.
- 775 Hödl, W. (1977). Call Differences and Calling Site Segregation in Anuran Species from
776 Central Amazonia Floating Meadows. *Oecologia*, 28, 351–363.
- 777 Humphries, J. M., Bookstein, F. L., Chernoff, B., Smith, G. R., Elder, R. L. & Poss, S.
778 G. (1981). Multivariate discrimination by shape in relation to size. *Systematic Zoology*,
779 30, 291–308.
- 780 Léon, J.R. (1969). The systematics of frogs of the *Hyla rubra* group in Middle America.
781 *Natural History Publications*, 18, 505–545.

- 782 Lescure, J. & Marty, C. (2001). *Atlas des amphibiens de Guyane*. Patrimoines Naturels,
783 Paris, 45, 1-388.
- 784 Lima, L. P., Bastos, R. P., Giaretta, A. A. (2004). A new *Scinax* Wagler, 1830 of
785 the *rostratus* group from Central Brasil (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos do*
786 *Museu Nacional*, 62, 505–512.
- 787 Lourenço, A. C. C., De Carvalho, A. L. G., Baêta, D., Pezzuti, T. L. & Leite, F. S. F.
788 (2013). A new species of the *Scinax catharinae* group (Anura, Hylidae) from Serra da
789 Canastra, southwestern state of Minas Gerais, Brazil. *Zootaxa*, 3613(6), 573–588.
- 790 Lutz, B. (1968). New Brazilian forms of *Hyla*. *Pearce-Sellards Series. Texas Memorial*
791 *Museum. Austin*, 10, 3–18.
- 792 Lutz, B. (1973). *Brazilian Species of Hyla*. University of Texas Press, Austin, 260 pp.
- 793 Marcelino, V. R., Haddad, C. F. B. & Alexandrino, J. Geographic distribution and
794 morphological variation of striped and nonstriped populations of the Brazilian Atlantic
795 Forest treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). *Journal of Herpetology*, 43(2),
796 351–361.
- 797 Marquez, R., De la Riva, I., Bosch, J. & Matheu, E. (2002). *Guía sonora de las ranas y*
798 *sapos de Bolivia*. CD 1. ALOSA, Fonoteca Zoológica MNCN. Madrid.
- 799 Marquez-Garcia, M., Correa-Solis, M., Sallaberry, M. & Mendez, M. A. (2009). Effects
800 of pond drying on morphological and life-history traits in the anuran *Rhinella spinulosa*
801 (Anura: Bufonidae). *Evolutionary Ecology Research*, 11, 1–13.
- 802 Myers, C. W. & Duellman, W. E. (1982). A new species of *Hyla* from Cerro Colorado,
803 and other tree frog records and geographical notes from Western Panama. *American*
804 *Museum Novitates*, 2752, 1–32.
- 805 Napoli, M. F. & Caramaschi, U. (1998) Duas novas espécies de *Hyla* Laurenti, 1768 do
806 Brasil central afins de *H. tritaeniata* Bokermann, 1965 (Amphibia, Anura, Hylidae).
807 *Boletim do Museu Nacional*, 391, 1–12.
- 808 Napoli, M. F. & Caramaschi, U. (1999). Geographic variation of *Hyla rubicundula* and
809 *Hyla anataliasi*, with description of a new species (Anura, Hylidae). *Alytes*, 16(3-4),
810 165–189.
- 811 Nunes, I., Carvalho Jr., R. R. & Pereira, E. G. (2010). A new species of *Scinax* Wagler
812 (Anura: Hylidae) from Cerrado of Brazil. *Zootaxa*, 2514, 24–34.
- 813 Nunes, I. & Pombal Jr., J. P. (2011). A new snouted treefrog of the speciose genus
814 *Scinax* Wagler (Anura, Hylidae) from northeastern Brazil. *Herpetologica*, 67(1), 80–88.
- 815 Nunes, I., Kwet, A. & Pombal Jr., J. P. (2012). Taxonomic revision of the *Scinax alter*
816 species complex (Anura: Hylidae). *Copeia*, 2012, 554–569.
- 817 Opdam, P. & Wascher, D. (2004). Climate change meets habitat fragmentation: linking
818 landscape and biogeographical scale levels in research and conservation.
819 *Biological Conservation*, 117, 285–297.
- 820 Pansonato, A., Strüssmann, C., Mudrek, J. R. & Martins, I. A. (2013). Morphometric

- 821 and bioacoustic data on three species of *Pseudopaludicola* Miranda-Ribeiro, 1926
 822 (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) described from Chapada dos Guimarães, Mato
 823 Grosso, Brazil, with the revalidation of *Pseudopaludicola ameghini* (Cope, 1887).
 824 *Zootaxa*, 3620(1), 147–162.
- 825 Pansonato, A., Mudrek, J. R., Veiga-Menoncello, A. C. P., Rossa-Feres, D. C., Martins,
 826 I. A. & Strüssmann, C. (2014). A new species of *Pseudopaludicola* Miranda-Ribeiro,
 827 1926 (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) from northwestern state of São Paulo,
 828 Brazil. *Zootaxa*, 3861(3), 249–264.
- 829 Pombal Jr., J. P., Haddad, C.F.B. & Kasahara, S. (1995). A new species of *Scinax*
 830 (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil, with comments on the genus. *Journal of*
 831 *Herpetology*, 29(1), 1–6.
- 832 Pombal Jr., J. P., Bilate, M., Gambale, P. G., Signorelli, L. & Bastos, R. P. (2011). A
 833 new Miniature Treefrog of the *Scinax ruber* Clade from the Cerrado of Central Brazil
 834 (Anura: Hylidae). *Herpetologica*, 67(3), 288–299.
- 835 Pyburn, W. F. (1973). A new hylid from the Llanos of Colombia. *Journal of*
 836 *Herpetology*, 7, 297–301.
- 837 Reis, S.F., Pessoa, L.M. & Strauss, R.E. (1990). Application of size-free canonical
 838 discriminant analysis to studies of geographic differentiation. *Revista Brasileira de*
 839 *Genética*, 13(3), 509–520.
- 840 Silva, N. S., Ribeiro, C. A. A. S., Barroso, W.R., Ribeiro, P.E.A., Soares, V.P. & Silva,
 841 E. (2008). Sistema de otto-codificação modificado para endereçamento de redes
 842 hidrográficas. *Revista Árvore*. 32(5), 891–897.
- 843 Savage, J. M. & Heyer, W. R. (1967). Variation and distribution in the tree-frog genus
 844 *Phyllomedusa* in Costa Rica, Central America. *Beitrage zur Neotropischen Fauna*, 5,
 845 111–131.
- 846 Smirnov, S.V. (1992). The influence of variation in larval period on adult cranial
 847 diversity in *Pelobates fuscus* (Anura: Pelobatidae). *Journal of Zoology*, 226, 601–612.
- 848 StatSoft, Inc. (2004) Statistica (data analysis software system), versão 8.0.
- 849 Sturaro, M. J. & Peloso, P. L. V. (2014). A new species of *Scinax* Wagler, 1830 (Anura:
 850 Hylidae) from the Middle Amazon River Basin, Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia*,
 851 54(2), 9–23.
- 852 Vanzolini, P. E. (1970). *Zoologia Sistemática, Geográfica e a Origem das Espécies*.
 853 Universidade de São Paulo e Instituto de Geografia, Teses e Monografias, 356 pp.
- 854 Verdade, V. K. & Rodrigues, M. T. (2007). Taxonomic Review of *Allobates* (Anura,
 855 Aromobatidae) from the Atlantic Forest, Brazil. *Journal of Herpetology*, 41(4), 566–
 856 580.
- 857 Vieira, K. S., Arzabe, C., Hernández, M. I. M. & Vieira, W. L. S. (2008). Na
 858 examination of morphometric variations in a Neotropical toda population
 859 (*Proceratophrys cristiceps*, Amphibia, Anura, Cycloramphidae). *PloS ONE*, 3(12), 1–9.

Wassersug, R.J. & Hoff, K. (1982). Developmental changes in the orientation of the anuran jaw suspension: a preliminary exploration into the evolution of anuran metamorphosis. *Evolutionary Biology*, 15: 223–246.

Wollenberg, K. C., Veith, M., Noonan, B. P. & Lötters (2006). Polymorphism versus species richness—systematics of large *Dendrobates* from the Eastern Guina Shield (Amphibia: Dendrobatidae), *Copeia*, 4, 623–629.

APÊNDICE I

LISTA DO MATERIAL EXAMINADO

***Scinax nebulosus* (machos).** BRASIL. **Maranhão.** Mirador (HUFMA 1746-1752), São Luís (HUFMA 1753-1770; 1776-1777; UFMG 2016; 12656; 12671; 12676; 12681-12682), Alcântara (HUFMA 1771-1775), Miranda do Norte (HUFMA 1966-1970), Arari (HUFMA 1971-1972), Alto Alegre do Pindaré (HUFMA 1973-1977; MPEG 35990-35994), Bom Jesus das Selvas (HUFMA1978), Bacabal (MNRJ36644), Balsas (MNRJ 43945-43946), Humberto de Campos (MNRJ 57959-57971), Estreito (UFMG9222), Parnarama (MPEG 28835-28837), Pinheiro (MPEG19301), Bacabeira (MPEG 35808-35810). **Pará.** Parauapebas (HUFMA 1827-1829), Belém (MNRJ 1098; 4055, holótipo; 14256-14287, parátipos; MPEG 975-979; 981-983; 1448; 1468; 3094-3095; 6139; 6171-6172; 6188; 6223-6224; 6231; 6240-6243; 6253; 6304-6306; 6310-6323; 6329-6331), Xinguara (MNRJ 55697-55698), Oriximiná (MNRJ32273), Canaã dos Carajás (UFMG 2012-2014; MPEG 35705-35707), Altamira (MPEG 26329-26334; 26336; 26338-26339; 31280), Melgaço (MPEG 5839; 15783), Paragominas (MPEG 7119-7122; 7134; 36585; 16599-16600; 16607-16608), Vitória do Xingu (MPEG 14097-14099), Ourilândia do Norte (MPEG 16463-16470), Óbidos (MPEG 30734-30742), Monte Alegre (MPEG 19785-19788; 19790-19792), Portel (MPEG 24993-24997; 24999-25003), Novo Progresso (MPEG 31282-31293), Barcarena (MPEG 20250-20251; 20254; 20260). **Ceará.** Tianguá (MNRJ 36647-36648; 55531-55532), Ubajara (MNRJ27457), Maranguape (MNRJ2020), Pecém (UFMG2015). **Amapá.** Macapá (MNRJ32973). **Mato Grosso.** Aripuanã (MNRJ44187). **Alagoas.** São Miguel dos Campos (MNRJ 36734-36735), Passo de Camaragibe (MNRJ10557), Penedo (UFMG 7617-7618; 7623-7626). **Paraíba.** Mamanguape (MNRJ 18039-18040). **Roraima.** São João da Baliza (MNRJ 77914; 77930-77931). **Tocantins.** Babaçulândia (MPEG 28039-28040), Ananás (MPEG20629).

***Scinax nebulosus* (fêmeas).** BRASIL. **Maranhão.** Alto Alegre do Pindaré (HUFMA 1975), Humberto de Campos (MNRJ 57963-57964), São Luís (UFMG 12662), Estreito (UFMG 9224-9225), Carolina (UFMG 9223; 9226). **Pará.** Belém (MNRJ 2025; 4056, parátipo; MPEG 980; 984; 3096; 6178; 6302; 6303), Tucuruí (MNRJ 52194), Canaã dos Carajás (UFMG 2011), Altamira (MPEG 26335; 26337; 31281), Marabá (MPEG 35844-35845), Vitória do Xingu (MPEG 10239; 11681), Óbidos (MPEG 30733), Monte

Alegre (MPEG 19789), Portel (MPEG 24998). **Ceará.** Tianguá (MNRJ 36646), Maranguape (MNRJ 1244; 1351). **Rondônia.** Parecis (MNRJ 85694), Guajará-Mirim (MPEG 16296). **Alagoas.** Penedo (UFMG 7627).

***Scinax constrictus* (machos).** BRASIL. **Goiás.** Pontalina (MNRJ 31226; UFG 516; 518), Campinorte (MNRJ 53093-53094), Pirenópolis (MNRJ 51166-51189), Palmeiras (MNRJ 31205, holótipo; 31206-31224, paratopótipos; UFG 992-995; 1008; 1010-1012), Montes Claros de Goiás (UFMG 3877-3878), Barro Alto (UFMG 1751-1752; PUCMG 14179-14197), Mossâmedes (UFG 821). **Tocantins.** Lajeado (MNRJ 48375), Muricilândia (MNRJ 54612; 60294), Goiatins (MNRJ 43925; UFG 2158-2159), Nova Olinda (MNRJ 75652-75653), Palmeirantes (MNRJ 42040), Aragominas (MNRJ 51458-51461; 66836-66837; 75636). **Alagoas.** Quibrângulo (MNRJ 35655), São Miguel dos Campos (MNRJ 9558-9561; 9563; 9565; 9570-9572; 9585; 36696-36704), Coruripe (MNRJ 38133-38135), Murici (MNRJ 9733-9736), Rio Largo (MNRJ 38554-38555; 38557-38558; 38603-38614). **Pará.** São Geraldo do Araguaia (MNRJ 60292-60293), Piçarra (MNRJ 51456-51457), Porto de Moz (UFMG 13989; 13998-13999). **Paraíba.** Mamanguape (MNRJ 18041). **Maranhão.** Balsas (UFMG 2162-2165). **Mato Grosso do Sul.** Corumbá (UFMG 4141).

***Scinax constrictus* (fêmeas).** BRASIL. **Goiás.** Pontalina (MNRJ 31227), Palmeiras (MNRJ 31225, paratopótipo; UFG 1009), Uruaçu (UFG 2090), Pirenópolis (UFG 3733), Mossâmedes (UFG 822). **Alagoas.** São Miguel dos Campos (MNRJ 9557; 9562; 9567-9569; 9573-9574; 9576; 9583), Rio Largo (MNRJ 38556). **Tocantins.** Goiatins (UFMG 1748-1749).

APÊNDICE II

LISTA DE LEGENDAS

Figura 1. (A) Prancha reproduzida por Spix (1824), mostrando a região dorsal do provável exemplar utilizado na descrição de *Scinax nebulosus*. (B) Parte da prancha 1, figura 3, publicada por Duellman (1972), apresentando fotografias em vista lateral de um espécime (KU 128365) de *Scinax nebulosus*.

Figura 2. Mapa de distribuição das 73 amostras populacionais analisadas de espécimes de *Scinax nebulosus* e *S. constrictus*.

Figura 3. Espécimes de *Scinax nebulosus* do município de Belém do estado do Pará (MPEG 6139) e de *S. constrictus* do município de Palmeiras do estado de Goiás (UFG 992). Regiões (A) dorsal de *S. nebulosus*, (B) ventral de *S. nebulosus*, (C) dorsal de *S. constrictus* e (D) ventral de *S. constrictus*; (E) tubérculos metacarpais de *S. nebulosus*; (F) tubérculos metatarsais de *S. nebulosus*; (G) flap anal de *S. nebulosus*; (H) tubérculos na borda da maxila inferior de *S. nebulosus*; (I) dentes vomerianos de *S. nebulosus*.

Figura 4. Projeção dos escores individuais (PC1 vs. PC2) resultantes da análise dos componentes principais (A) ‘independente’ e (B) ‘dependente’ do tamanho para 12 caracteres morfométricos de machos adultos de *Scinax nebulosus* oriundos de 56 amostras populacionais. Projeção dos escores individuais (PC1 vs. PC2) oriundos da análise dos componentes principais (PCA) de 12 variáveis morfométricas, (C) sem correção do tamanho e (D) com os valores de tamanho corrigidos pelo método alométrico de Burnaby, obtidos de machos adultos de *S. nebulosus* e *S. constrictus* de amostras populacionais de 56 localidades.

Figura 5. Unidades Geográficas Operacionais (UGOs) resultantes de 59 amostras populacionais de machos adultos distribuídos em grupos geográficos baseados em (A) três domínios morfoclimáticos (Amazônico, dos Cerrados e dos Mares de Morros) e em (B) três bacias hidrográficas brasileiras (Amazonas, Rio Tocantins e Costeira do Atlântico Sul).

Figura 6. Ilustração dos padrões de desenhos do dorso. Padrão D1, padrão maculado (UFMG 6794, MNRJ 57959, MNRJ 42040, MNRJ 31227); padrão D2, padrão com coloração uniforme e imaculado (HUFMA 1777, HUFMA 1776, HUFMA 1977, MPEG 16599).

Figura 7. Projeção dos escores individuais oriundos da análise dos componentes principais (PCA) de 12 variáveis morfométricas, sem remoção do efeito do tamanho, obtidas de machos adultos de 56 localidades contra **(A)** o gradiente latitudinal e **(B)** o gradiente longitudinal. **(C)** Projeção dos escores individuais oriundos da análise dos componentes principais (PCA) de 12 variáveis morfométricas, com remoção do efeito do tamanho, obtidos de machos adultos de 56 localidades contra o gradiente longitudinal.

Figura 8. Projeção dos escores individuais no espaço reduzido dos eixos discriminantes de maior representatividade (CV1 vs. CV2), extraídos dos dados morfométricos referentes às unidades geográficas operacionais estabelecidas nos principais domínios morfoclimáticos, **(A)** sem remoção e **(B)** com a correção do efeito do tamanho.

Figura 9. Projeção dos escores individuais no espaço reduzido dos eixos discriminantes (CV1 vs. CV2), extraídos dos dados morfométricos referentes às unidades geográficas operacionais estabelecidas na principais Bacias hidrográficas, **(A)** sem remoção e **(B)** com a correção do efeito do tamanho.

Figura 10. **(A)** Oscilograma, sonograma e gráfico de amplitude do canto de anúncio de um espécime de *Scinax nebulosus* do município de Belém, estado do Pará. **(B)** Oscilograma, sonograma e gráfico de amplitude do canto de anúncio de um espécime de *Scinax constrictus* do município de Palmeiras, do estado de Goiás.

A)**B)**

Figura 1.

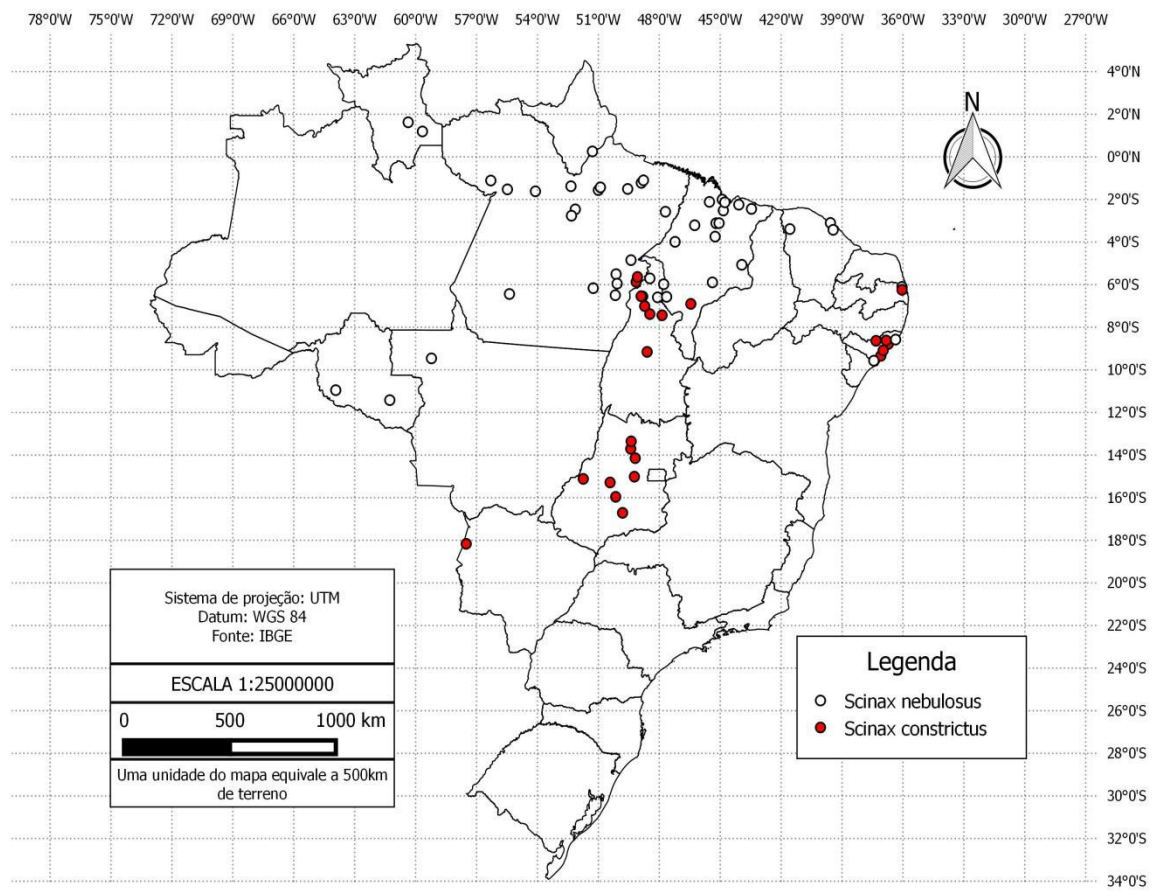
**Figura 2.**



Figura 3.

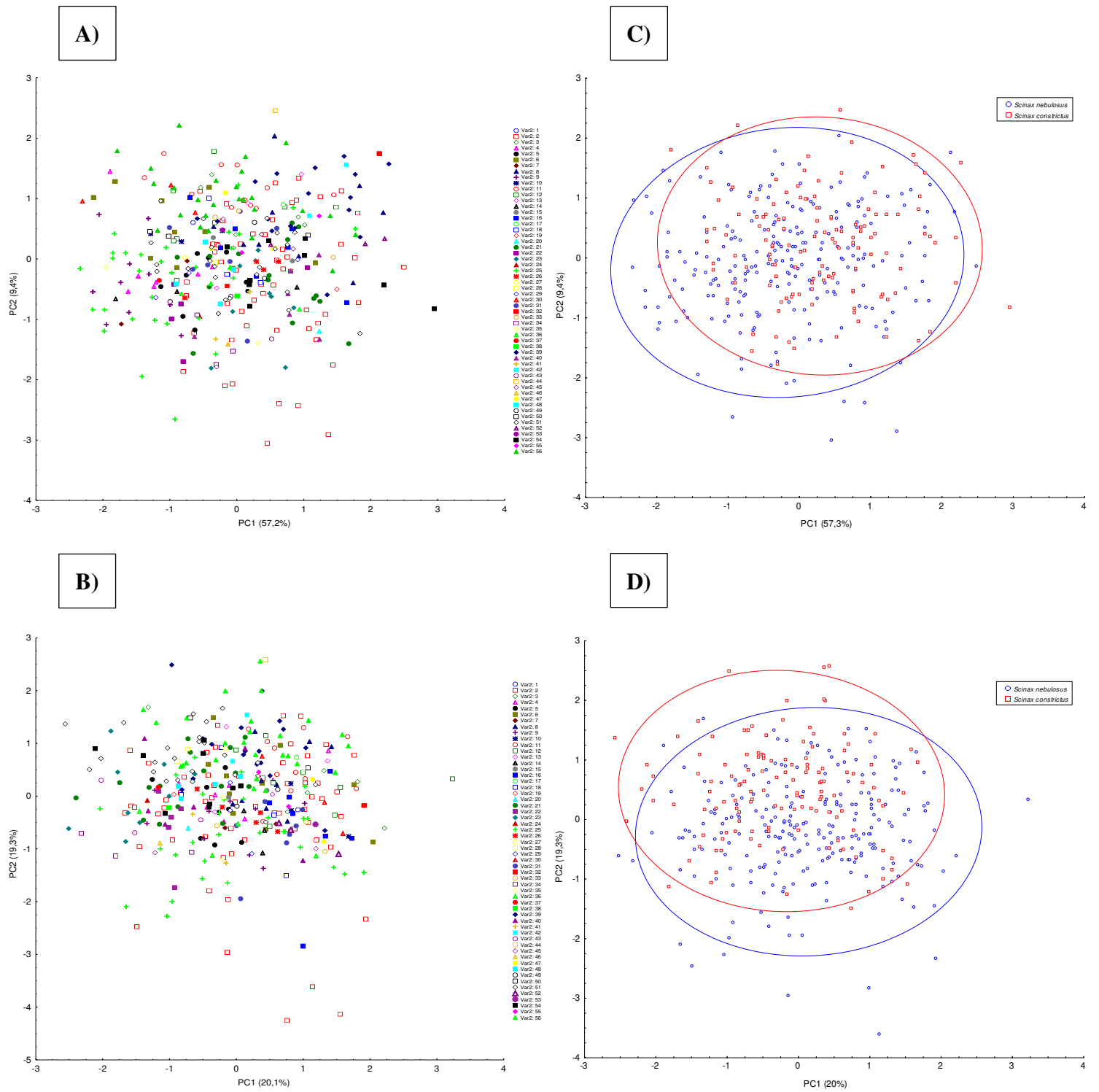


Figura 4.

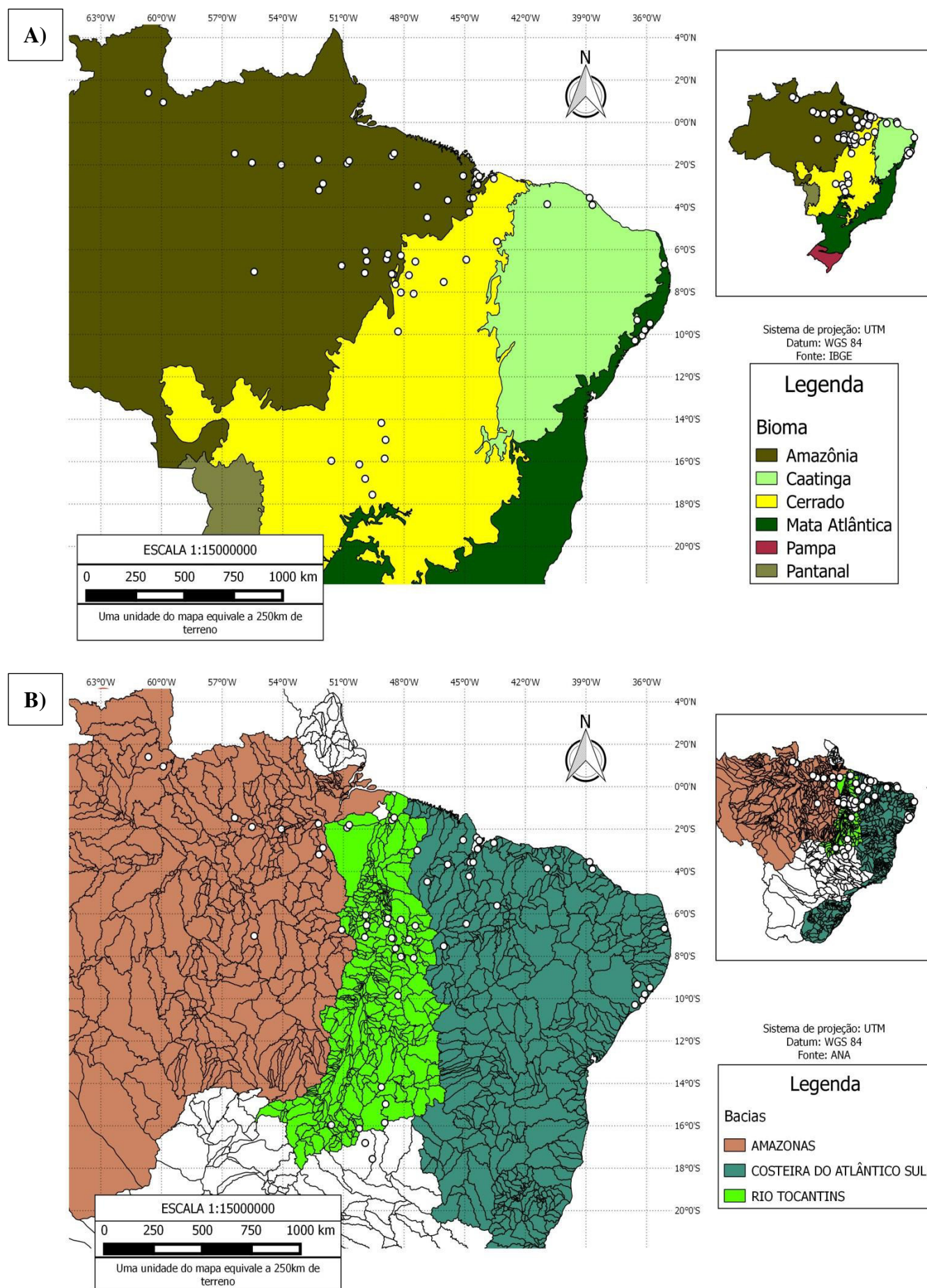
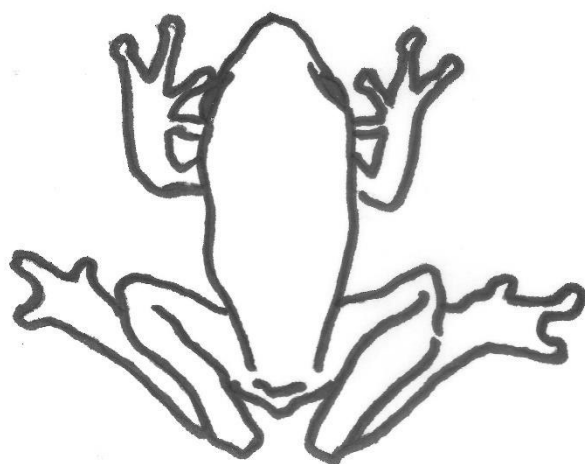


Figura 5.



PADRÃO D1



PADRÃO D2

Figura 6.

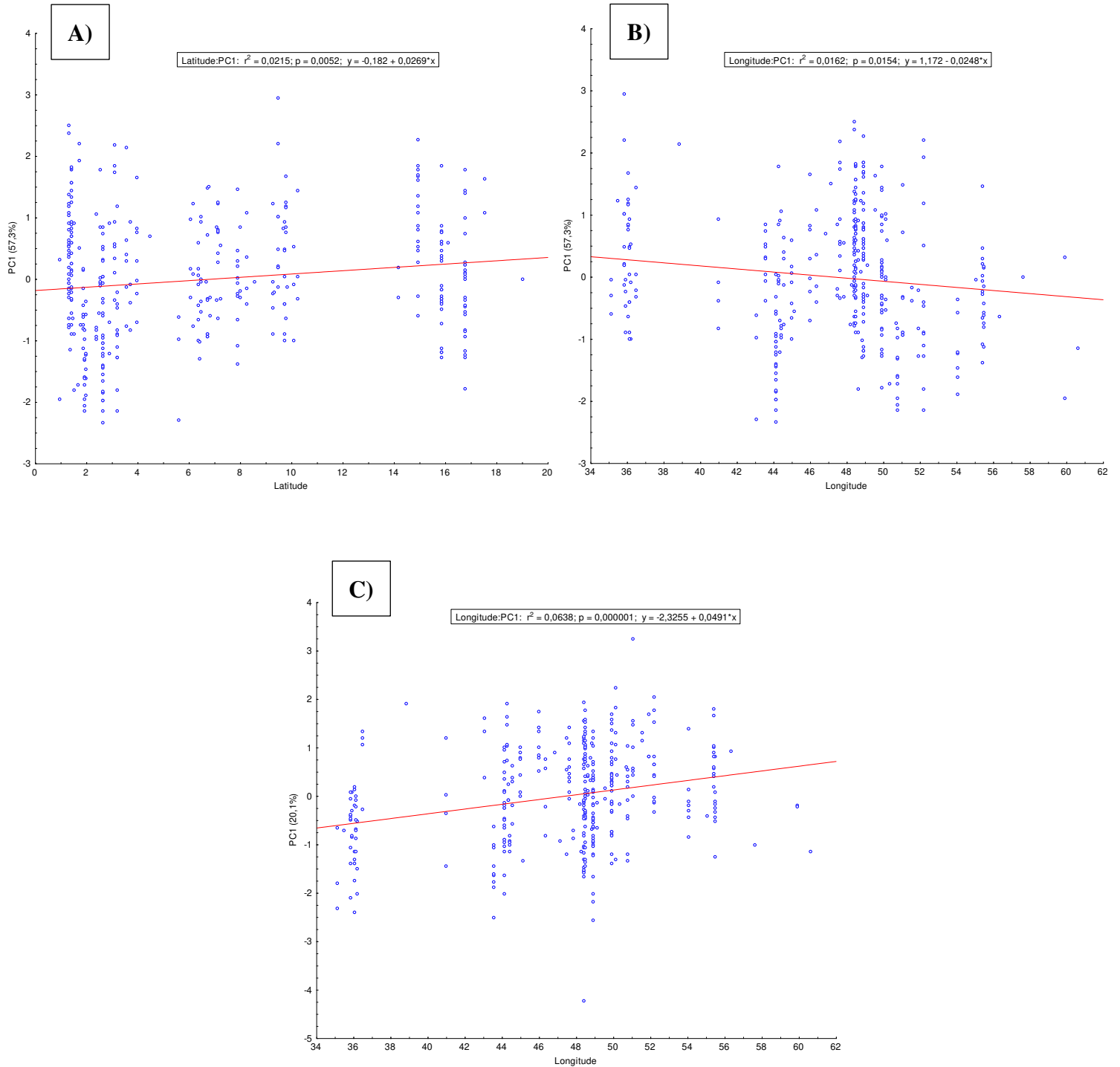
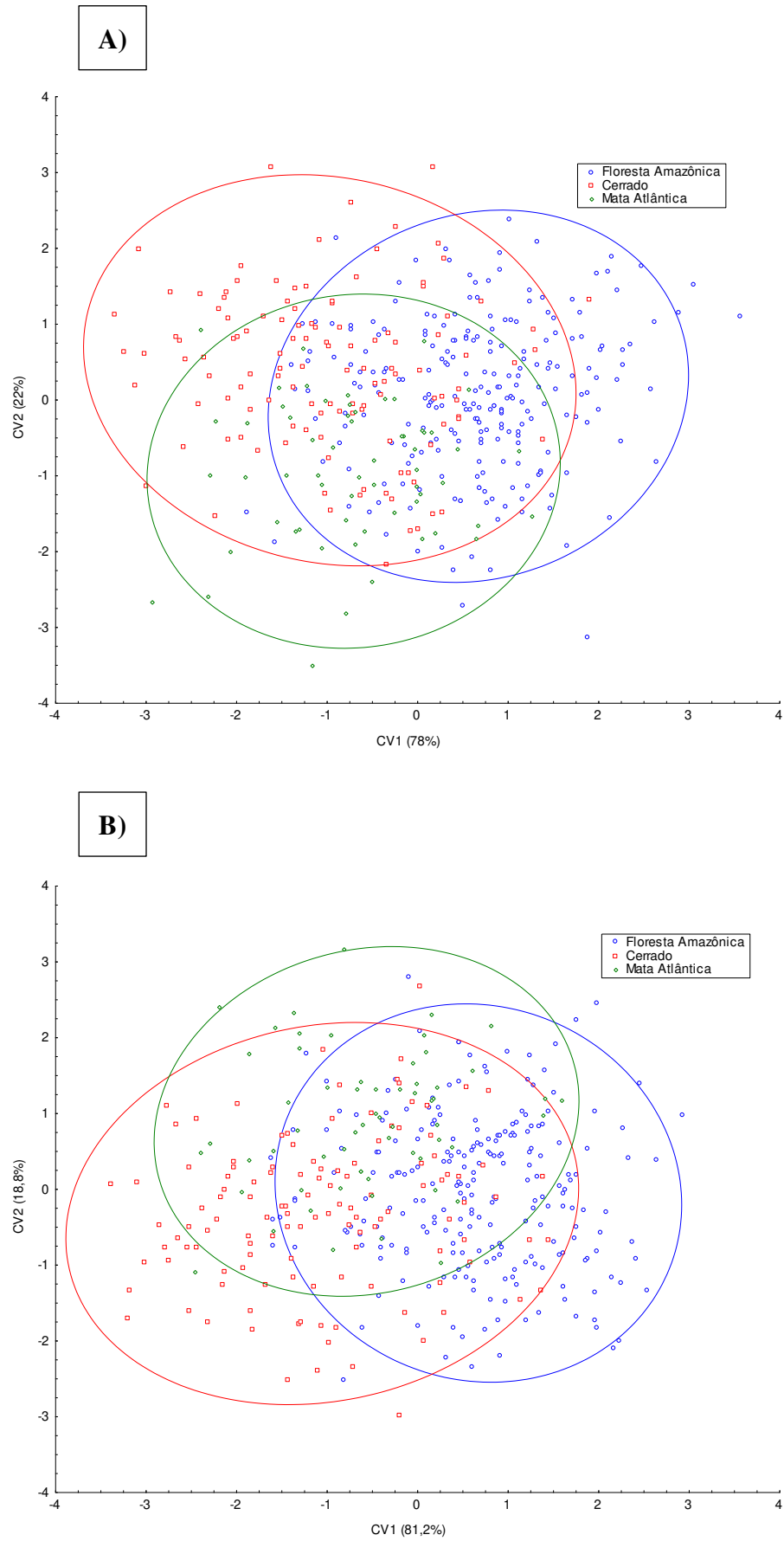
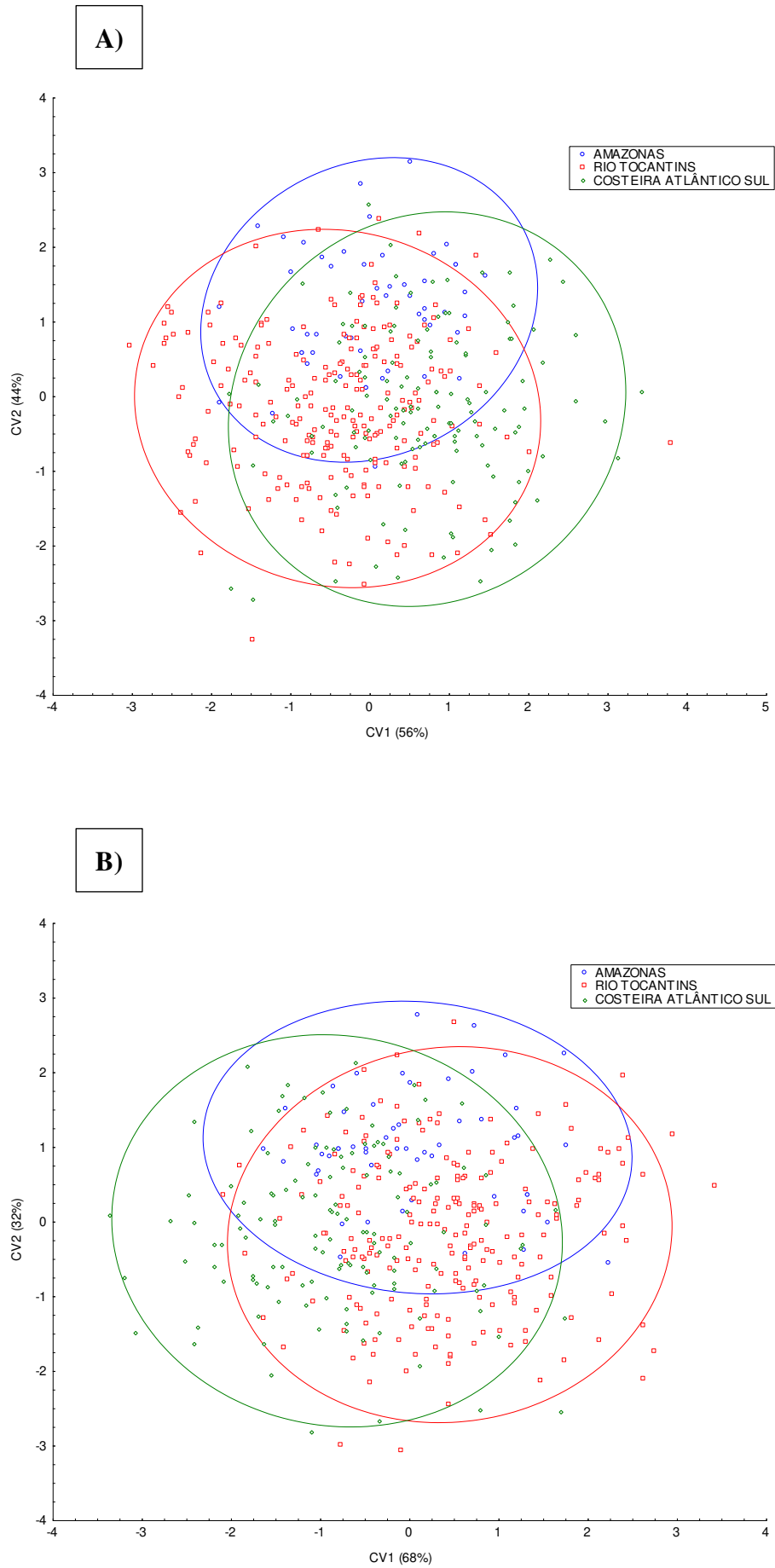
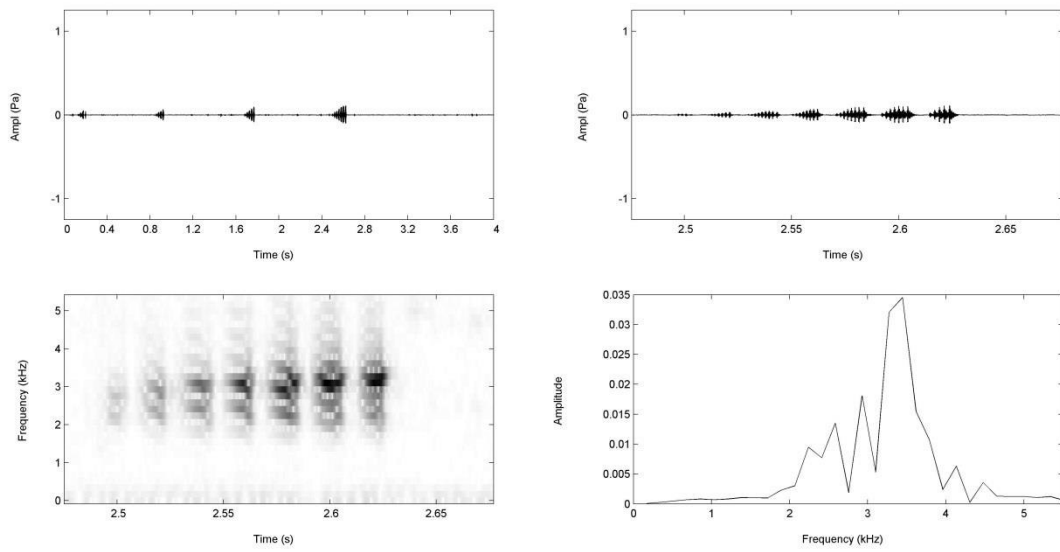


Figura 7.

**Figura 8.**

**Figura 9.**

A)



B)

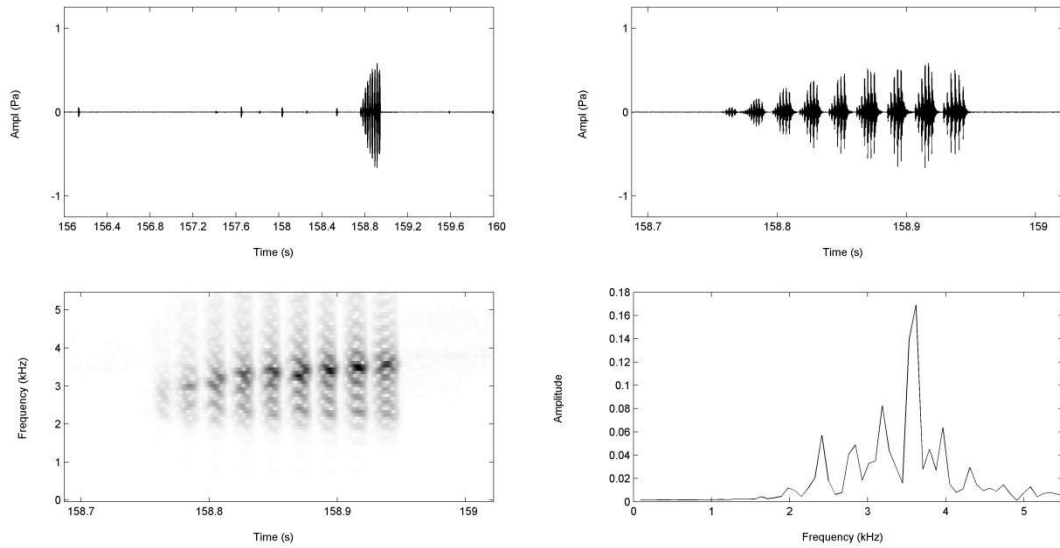


Figura 10.

TABELAS

Tabela 1. Dados de frequência (%) de cada padrão de desenho de machos e fêmeas adultas de *Scinax nebulosus* e *S. constrictus* oriundos de 71 amostras populacionais. Padrão maculado (**D1**) e Padrão uniforme e imaculado (**D2**) (Figura 6). *(_) Número de Fêmeas.

Localidades	Quantidade de espécimes	<i>S. nebulosus</i>		<i>S. constrictus</i>		<i>S. nebulosus</i>		<i>S. constrictus</i>	
		D1 ♂	D2 ♂	D1 ♂	D2 ♂	D1 ♀	D2 ♀	D1 ♀	D2 ♀
São Luís - MA	33(2)	70,90%	29,10%			100%			
Alcântara, MA	5	80%	20%						
Fazendinha, Macapá, AP	1	100%							
Bacabal - MA	1	100%							
Xinguara - PA	2	100%							
Aripuanã, MT	1	100%							
Porto Trombetas - PA	1		100%						
Rio Tocantins, PA	(1)						100%		
São Miguel dos Campos - AL	31(8)	100%		85%	15%			88,90%	11,10%
Humberto de Campos, MA	13(2)	90,90%	10,10%			100%			
Belém - PA	86(8)	83,30%	16,70%			75%	25%		
Mamanguape - Paraíba	2	100%							
Ubajara - CE	1	100%							
Tianguá - CE	3(1)	50%	50%			100%			
Passo do Camaragibe	1		100%						
Maranguape - CE	3(2)	100%				100%			
BR-210, RR	1	100%							
São João da Baliza - RR	2	100%							
Parecis - RO	(1)					100%			
Canaã dos Carajás - Pará	7(1)	50%	50%				100%		
Pecém - CE	1	100%							
Penedo, AL	7(1)	66,70%	33,30%			100%			
Estreito, MA.	3(2)		100%			100%			
Carolina, MA.	(2)					50%	50%		
Mirador, MA	7	71,40%	28,60%						
Babaçulândia, TO	2	100%							
Altamira - PA	13(3)	80%	20%			66,70%	33,30%		

Melgaço - PA	2	100%							
Parnarama, MA	3	66,70%	33,30%						
Paragominas - PA	10	100%							
Pinheiro - MA	1	100%							
Ananás, TO	1	100%							
Parque Nacional Serra da Cutia, RO	(1)					100%			
Marabá - PA	(2)					100%			
Bacabeira - MA	3	66,70%	33,30%						
Vitória do Xingu, PA	5(2)	100%				100%			
Ourilândia do Norte - PA	8	100%							
Óbidos, PA	10(1)	77,80%	13,20%			100%			
Monte Alegre - PA	8(1)	100%					100%		
Portel - PA	11(1)	70%	30%			100%			
Novo Progresso, PA	12	83,30%	16,70%						
Alto Alegre do Pindaré, MA	10(1)	80%	20%			100%			
Barcarena - PA	4	75%	25%						
Parauapebas, PA.	3	100%							
Bom Jesus das Selvas - MA, Brasil	1		100%						
Miranda do Norte, MA, Brasil	5	100%							
Arari, MA, Brasil	2	100%							
Reserva Biológica Guaribas SEMA I, Paraíba	3				100%				
Lajeado, TO	1			100%					
Muricilândia - TO	2			100%					
São Geraldo do Araguaia, PA	2			50%	50%				
Goiatins, TO	5(2)			100%				100%	
Quebrângulo - AL	1			100%					
Nova Olinda - TO	2			50%	50%				
Palmeirante - TO	1			100%					
Aragominas - Tocantins	7			71,43%	28,57%				
Piçarra - PA	2			50%	50%				
Pontalina, GO	2(1)			100%				100%	
BR-153, Campinorte - Goiás	2			100%					
Coruripe - AL	3			100%					

Murici - AL	4			100%					
Rio Largo - AL	17(1)			87,50%	13,50%			100%	
Pirenópolis - GO	25(1)			79,17%	20,83%			100%	
Palmeiras de Goiás - GO	30(2)			78,60%	21,42%			100%	
Pôrto de Moz - PA	3			66,70%	33,30%				
Balsas - MA	5				100%				
Montes Claros de Goiás, GO	2			100%					
Barro Alto - GO	19			78,90%	21,10%				
Corumbá - MS	1			100%					
Uruaçu - GO	(1)							100%	
Mossâmedes - GO	2			100%					100%

Tabela 2. Média, Desvio Padrão e Amplitude das medidas de machos e fêmeas de *Scinax nebulosus* e *S. constrictus* provenientes de 73 amostras populacionais.

	<i>S. nebulosus</i>						<i>S. constrictus</i>					
	♂ (n=296)			♀ (n=37)			♂ (n=155)			♀ (n=19)		
	M.	DP.	AMP.	M.	DP.	AMP.	M.	DP.	AMP.	M.	DP.	AMP.
CRC	26,00	2,22	17,42 - 31,09	33,54	3,03	25,97 - 39,25	25,42	1,73	20,92 - 29,39	32,30	2,19	28,85 - 37,22
CC	9,22	0,76	6,62 - 10,80	11,87	0,97	9,29 - 14,03	9,12	0,59	7,78 - 10,31	11,64	0,63	10,71 - 12,59
LC	8,54	0,76	6,02 - 10,28	11,03	0,92	9,16 - 13,18	8,18	0,55	6,66 - 9,32	10,81	0,69	9,94 - 12,19
CCX	12,44	1,17	8,40 - 15,20	16,35	1,57	12,83 - 19,98	12,08	0,99	9,70 - 15,19	15,91	0,95	13,72 - 17,34
CT	14,20	1,15	9,97 - 16,80	18,89	2,02	14,35 - 22,66	13,84	1,00	11,09 - 16,96	18,37	1,02	16,71 - 19,89
CP	10,32	1,03	6,49 - 12,76	13,66	1,42	10,90 - 17,12	10,35	0,97	7,87 - 12,61	13,47	0,94	11,98 - 15,07
DO	2,76	0,26	1,81 - 3,52	3,2	0,30	2,60 - 3,72	2,61	0,22	2,13 - 3,14	3,04	0,25	2,50 - 3,33
DIO	2,75	0,29	1,85 - 3,67	3,37	0,44	2,41 - 4,28	2,61	0,24	1,80 - 3,20	3,35	0,28	2,87 - 3,74
DIN	1,83	0,19	1,13 - 2,42	2,33	0,26	1,89 - 2,98	1,87	0,15	1,47 - 2,28	2,41	0,16	2,10 - 2,61
DON	3,28	0,30	2,26 - 4,03	4,29	0,44	3,24 - 5,25	3,18	0,24	2,69 - 3,71	4,26	0,36	3,60 - 4,85
DFN	1,32	0,15	0,86 - 1,88	1,68	0,24	1,14 - 2,24	1,30	0,14	1,00 - 1,69	1,62	0,17	1,20 - 1,94
DT	1,41	0,16	0,96 - 1,83	1,82	0,25	1,50 - 2,89	1,46	0,14	1,17 - 1,93	1,84	0,25	1,11 - 2,17

(CRC) Comprimento rostro-cloacal; (CC) Comprimento da cabeça; (LC) Largura da cabeça; (CCO) Comprimento da coxa; (CT) Comprimento da tíbia; (CP) comprimento do pé; (DO) Diâmetro do olho; (DIO) Distância interocular; (DIN) Distância entre as narinas; (DON) Distância do olho a narina; (DFN) Distância do focinho a narina; (DT) Diâmetro do tímpano.

Tabela 3. Proporções das medidas de machos e fêmeas de *Scinax nebulosus* e *S. constrictus* provenientes de 73 amostras populacionais.

VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS	PROPORÇÕES			
	<i>Scinax nebulosus</i>		<i>Scinax constrictus</i>	
	♂ (n=296)	♀ (n=37)	♂ (n=155)	♀ (n=19)
CCX/CRC	0,48	0,49	0,48	0,49
CT/CRC	0,55	0,56	0,54	0,57
CP/CRC	0,40	0,41	0,41	0,42
LC/CC	0,93	0,93	0,90	0,93
DON/CC	0,36	0,36	0,35	0,37
DO/CC	0,30	0,27	0,29	0,26
DT/CC	0,15	0,15	0,16	0,16
DT/DO	0,51	0,57	0,56	0,61
DIN/LC	0,21	0,21	0,23	0,22
DIN/CC	0,20	0,20	0,21	0,21

Tabela 4. Média, desvio padrão e amplitude dos parâmetros acústicos das vocalizações de anúncio de *Scinax nebulosus* e *S. constrictus*.

	<i>Scinax nebulosus</i>	<i>Scinax constrictus</i>
Duração do canto	0,17±0,03 s (0,09-0,22 s; 25 cantos)	0,16±0,03 s (0,11-0,23 s; 20 cantos)
Número de notas	10,1±2,21 (6-13 notas; 25 cantos)	9±1,12 (7-11 notas; 20 cantos)
Duração da nota	0,01±0,006 s (0,001-0,104 s; n=240 notas)	0,01±0,002 s (0,004-0,015 s; n=146 notas)
Número de pulsos	6,32±1,15 pulsos (3-10 pulsos, n=240 notas)	5,54±0,97 pulsos (2-7 pulsos; n=146 notas)
Duração do pulso	0.0016±0.001 s (0.0002-0.017 s, n=1518 pulsos)	0.0016±0.0003 s (0.001-0.003 s, n=809 pulsos)
Frequência Dominante	3381,4±396,9 Hz (2325,5-4048,2 Hz; n=25 cantos de 5 machos)	3603,3±274,9 Hz (2842,3-4048,2 Hz; n=20 cantos de 4 machos)

Tabela 5. *Loadings* da análise dos componentes principais para 12 variáveis morfométricas de machos de *Scinax nebulosus* e *S. constrictus* provenientes de 56 amostras populacionais.

VÁRIAVEIS MORFOMÉTRICAS	NÃO CORRIGIDOS		CORRIGIDOS	
	PC1	PC2	PC1	PC2
CRC	-0,90	0,03	0,45	-0,33
CC	-0,89	-0,14	-0,10	-0,50
LC	-0,88	-0,19	0,15	-0,75
CCX	-0,82	0,37	0,87	0,10
CT	-0,88	0,22	0,75	-0,01
CP	-0,67	0,52	0,55	0,45
DO	-0,58	-0,54	-0,22	-0,52
DIO	-0,75	-0,18	-0,14	-0,31
DIN	-0,62	0,11	-0,43	0,49
DON	-0,82	-0,13	-0,02	-0,44
DNF	-0,59	0,26	-0,26	0,60
DT	-0,55	-0,44	-0,48	-0,15

Tabela 6. Média, Desvio Padrão e Amplitude das medidas de machos de *Scinax nebulosus* para 3 UGOs convencionadas com base em parâmetros morfoclimáticos.

	BIOMAS								
	AMAZÔNIA (234)			CERRADO (123)			MATA ATLÂNTICA (61)		
CRC	26,12	2,28	17,42 - 31,09	25,75	1,62	22,64 - 30,50	24,85	1,79	20,92 - 28,03
CC	9,23	0,76	6,62 - 10,80	9,28	0,57	7,99 - 10,65	8,95	0,62	7,78 - 10,08
LC	8,58	0,77	6,02 - 10,28	8,26	0,53	7,14 - 10,11	8,12	0,64	6,66 - 9,10
CCO	12,51	1,18	8,40 - 15,20	12,29	0,95	10,16 - 15,19	11,63	0,96	9,70 - 13,17
CT	14,31	1,16	9,97 - 16,80	14,02	0,89	12,01 - 16,96	13,45	1,02	11,09 - 15,07
CP	10,37	1,14	8,96 - 12,76	10,50	0,86	8,70 - 12,61	9,87	0,95	7,87 - 11,51
DO	2,78	0,26	1,81 - 3,52	2,61	0,22	2,13 - 3,09	2,63	0,24	2,03 - 3,14
DIO	2,75	0,30	1,85 - 3,67	2,65	0,25	1,80 - 3,26	2,63	0,22	2,08 - 3,27
DIN	1,82	0,20	1,13 - 2,42	1,86	0,15	1,47 - 2,19	1,87	0,14	1,60 - 2,28
DON	3,29	0,31	2,26 - 4,03	3,20	0,24	2,69 - 3,70	3,19	0,28	2,58 - 3,71
DFN	1,32	0,15	0,86 - 1,88	1,35	0,14	1,03 - 1,82	1,24	0,13	1,00 - 1,53
DT	1,41	0,16	0,96 - 1,83	1,45	0,14	1,17 - 1,88	1,43	0,13	1,10 - 1,93

Tabela 7. Média, Desvio Padrão e Amplitude das medidas de machos de *Scinax nebulosus* para 3 UGOs convencionadas com base nas principais bacias hidrográficas.

	BACIAS								
	AMAZONAS (54)			RIO TOCANTINS (230)			COSTEIRA DO ATLÂNTICO SUL (132)		
CRC	27,30	1,85	20,88±31,09	25,54	1,98	17,42±29,39	25,74	2,14	18,53±30,5
CC	9,42	0,62	7,27±10,34	9,09	0,65	6,65±10,66	9,33	0,78	6,62±10,8
LC	8,87	0,61	7,02±9,9	8,28	0,63	6,04±10,12	8,52	0,83	6,02±10,28
CCO	12,93	0,96	9,72±15,04	12,25	1,11	8,4±15,19	12,20	1,17	9,07±15,2
CT	14,75	1,01	11,76±16,7	14,02	1,08	10,12±16,96	13,98	1,15	9,97±16,8
CP	10,89	0,92	8,21±12,76	10,32	1,10	8,96±12,61	10,15	0,99	6,63±12,29
DO	2,79	0,23	2,22±3,2	2,71	0,26	2,11±3,52	2,70	0,28	1,81±3,35
DIO	2,81	0,28	1,9±3,2	2,65	0,27	1,8±3,42	2,75	0,29	1,86±3,67
DIN	1,92	0,19	1,5±2,38	1,81	0,18	1,13±2,22	1,87	0,18	1,16±2,42
DON	3,41	0,26	2,83±3,97	3,19	0,28	2,26±4,03	3,30	0,29	2,56±3,96
DFN	1,38	0,15	1±1,88	1,31	0,15	0,86±1,79	1,31	0,16	0,92±1,82
DT	1,45	0,16	0,98±1,74	1,42	0,16	1,01±1,88	1,45	0,15	0,96±1,93

Tabela 8. Coeficientes padronizados e *loadings* da análise de variáveis canônicas para 12 variáveis morfométricas por UGOs convencionadas em critérios morfoclimáticos e bacias hidrográficas.

VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS	BIOMAS						BACIAS					
	NÃO CORRIGIDOS			CORRIGIDOS			NÃO CORRIGIDOS			CORRIGIDOS		
	COEFICIENTES PADRONIZADOS	CV1	CV2	COEFICIENTES PADRONIZADOS	CV1	CV2	COEFICIENTES PADRONIZADOS	CV1	CV2	COEFICIENTES PADRONIZADOS	CV1	CV2
CRC	-0,31	0,07	-0,35	0,01	0,03	0,11	-0,42	0,07	0,60	0,10	0,16	0,45
CC	-0,94	0,01	-0,32	-0,30	-0,11	-0,27	0,80	0,30	0,26	-0,33	-0,41	-0,50
LC	0,91	0,24	-0,26	0,44	0,40	0,09	0,96	0,29	0,53	-0,36	-0,30	0,29
CCX	-0,25	0,08	-0,53	-0,01	0,02	-0,36	-0,21	-0,05	0,46	0,05	0,33	0,09
CT	0,88	0,15	-0,47	0,59	0,17	-0,30	-0,98	-0,04	0,49	0,18	0,38	0,16
CP	-0,57	-0,12	-0,40	-0,55	-0,33	-0,21	-0,37	-0,11	0,40	0,56	0,59	-0,04
DO	0,58	0,37	-0,13	-0,51	-0,40	0,08	-0,64	-0,04	0,23	-0,48	-0,15	0,11
DIO	0,48	0,27	-0,06	-0,41	-0,33	-0,12	0,32	0,33	0,34	0,19	0,31	0,02
DIN	-0,59	-0,23	0,07	0,23	0,34	-0,50	0,44	0,30	0,36	0,33	0,24	-0,06
DON	0,37	0,20	-0,06	-0,24	-0,26	-0,36	0,50	0,33	0,49	0,22	0,36	-0,22
DNF	-0,02	-0,07	-0,50	-0,10	0,15	0,27	-0,30	-0,03	0,33	-0,22	-0,17	0,02
DT	-0,53	-0,15	-0,06	0,19	0,23	-0,07	-0,07	0,18	0,08	0,01	0,12	0,36

CONCLUSÕES GERAIS

A partir da análise dos resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que *Scinax nebulosus* e *Scinax constrictus* são espécies de baixa variabilidade morfológica, alta conservação de caracteres externos e com diferenças que não foram consideradas grandes o bastante para permitir o estabelecimento de uma diagnose segura entre as duas. Além disso, a análise dos cantos de anúncio de indivíduos provenientes das duas localidades-tipo e as comparações realizadas entre diferentes amostras populacionais sugeridas com base em localidades geográficas também não mostraram a existência de diferenças diagnósticas.

Na ausência de qualquer evidência morfológica, morfométrica e bioacústica para manter o atual status taxonômico e as duas espécies como unidades separadas, torna-se prudente considerar este um caso de variação intra-específica. E até que evidências ecológicas ou moleculares estejam disponíveis para contribuir com a melhor compreensão desse grupo, sugere-se no momento tratar *Scinax constrictus* como um sinônimo júnior de *Scinax nebulosus*, corroborando dessa forma com as hipóteses iniciais propostas neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, C.G. & CARDOSO, A.J., 1985. Variabilidade em medidas dos espermatozoides de *Hyla fuscovaria* (Amphibia, Anura) e seu significado taxonômico. **Revista Brasileira de Biologia**. 45: 387–391.
- ANDRADE, G.V. & CARDOSO, A.J., 1987. Reconhecimento do grupo rizibilis: Descrição de uma nova espécie de *Hyla* (Amphibia: Anura). **Revista Brasileira de Zoologia**. 3(7): 433–440.
- ASHTON, K. G.; TRACY, M. C. & DE QUEIROZ, A., 2000. Is Bergmann's rule valid for mammals?. **American Naturalist**. 156: 390–415.
- BABIK, W. & RAFINSKI, J., 2000. Morphometric differentiation of the moor frog (*Rana arvalis* Nilss.) in Central Europe. **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**. 38: 239–247.
- BIDAU, C. J.; MARTÍ, D. A. & BALDO, D., 2011. Inter- and Intraspecific geographic variation of Body size in South American Redbelly Toads of the genus *Melanophryniscus* Gallardo, 1961 (Anura: Bufonidae). **Journal of Herpetology**. 45(1): 66–74.
- BOKERMANN, W.C.A., 1964. Uma nova espécie de “*Hyla*” da serra do mar em São Paulo. **Revista Brasileira de Biologia**. 24(4): 429–434
- BOKERMANN, W.C.A., 1967. Dos nuevas especies de *Hyla* del grupo catharinae. **Neotropica**. 13(41): 61–66.
- CARAMASCHI, U., 2004. The Gender of the Genus *Scinax* Wagler, 1830 (Anura, Hylidae). **Herpetological Review**. 35(1): 27.
- COCHRAN, D. M., 1955. Frogs of southeastern Brazil. **Bulletin of the United States National Museum**. 206: 1–423
- COCHRAN, D. M. & GOIN, C. J., 1970. Frogs of Colombia. **Bulletin of the United States National Museum**. 288: 1–655.
- CRUZ, C. A. G.; NUNES, I. & JUNCÁ, F. A., 2012. Redescription of *Proceratophrys cristiceps* (Müller, 1883) (Amphibia, Anura, Odontophrynidae), with description of two new species without eyelid appendages from northeastern Brazil. **South American Journal of Herpetology**. 7(2): 110–122.
- DUBOIS, A., 2003. The relationships between taxonomy and conservation biology in the century of extinctions. **C. R. Biologies**. 326: 9–21.
- DUELLMAN, W.E., 1970. **The hylid frogs of Middle America**. Monograph of The Museum of Natural History, The University of Kansas. (1): 1–753.
- DUELLMAN, W.E., 1972a. A new species of *Hyla* from Amazonian Ecuador. **Copeia**. 1972 (n.2): 265–271.
- DUELLMAN, W.E., 1972b. South American frogs of the *Hyla* rostrata group (Amphibia, Anura, Hylidae). **Zoologische Mededelingen Leiden**. 47: 177–192.

- DUELLMAN, W.E. & WIENS, J.J., 1992. The status of the hylid frog genus *Oloolygon* and the recognition of *Scinax* Wagler, 1830. **Occasional Papers of The Museum of Natural History, The University of Kansas**. 151: 1–23.
- DUELLMAN, W. E., 2001. The Hylid Frogs of Middle America. **Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca, New York**.
- DUMÉRIL, A. M. C. & BIBRON, G., 1841. Erpétologie Générale ou Histoire Naturelle Complète des Reptiles. **Paris: Librairie Encyclopedique de Roret**. 8.
- DUNN, E.R., 1933. A new *Hyla* from the Panama canal zone. **Occasional Papers of The Boston Society of Natural History**. 8: 61-64.
- DRUMMOND, L. de O.; BAÊTA, D. & PIRES, M. R. S., 2007. A new species of *Scinax* (Anura, Hylidae) of the *S. ruber* clade from Minas Gerais, Brazil. **Zootaxa**. 1612: 45–63.
- FAIVOVICH, J., 2002. A cladistics analysis of *Scinax* (Anura: Hylidae). **Cladistics**. 18: 367-393.
- FAIVOCICH, J.; HADDAD, C. F. B; GARCIA, P. C. A.; FROST, D. R.; CAMPEBELL, J. A. & WHEELER, W. C., 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. **Bulletin of The American Museum of Natural History**, 294: 1-240.
- FOUQUETTE, M. J. & DELAHOUSSE, A.J., 1977. Sperm morphology in the *Hyla rubra* group (Amphibia, Anura, Hylidae), and its bearing on generic status. **Journal of Herpetology**. 11(4): 387–396.
- FOUQUETTE, A.; GILLES, A.; VENCES, M.; MARTY, C.; BLANC, M. & GEMMELL, N. J., 2007. Underestimation of species richness in Neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. **PLoS ONE**. 2: 1109.
- FROST, D. R., 2014. **Amphibian Species of the World**: an Online Reference. Version 5.6 (9 de Março de 2014). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- GEHARA, M.; CANEDO, C.; HADDAD, C. F. B. & VENCES, M., 2013. From widespread to microendemic: molecular and acoustic analyses show that *Ischnocnema guentheri* (Amphibia: Brachycephalidae) is endemic to Rio de Janeiro, Brazil. **Conserv. Genet. Springer**.
- GLAW, F. & FRANZEN, M., 2006. Type catalogue of amphibians in the Zoologische Staatssammlung München. **Spixiana. München**. 29: 153–192.
- HANKEN, J., 1999. Why are there so many new amphibian species when amphibians are declining?. **TREE**. 14(1): 7-8.
- HEYER, W. R.; REID, Y. R., 2003. Does advertisement call variation coincide with genetic variation in the genetically diverse frog taxon currently known as *Leptodactylus fuscus* (Amphibia: Leptodactylidae)?. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 75 (1): 39-54.

- HOOGMOED, M. S. & GRUBER, U., 1983. Spix and Wagler type specimens of reptiles and amphibians in the Natural History Musea in Munich (Germany) and Leiden (The Netherlands). **SPIXIANA**, 319-415.
- KOLENC, F., BORTEIRO, C. & TEDROS, M., 2004. La larva de *Hyla uruguayana* Schmidt, 1944 (Anura: Hylidae), con comentarios sobre su biología en Uruguay y su status taxonómico. **Cuadernos de Herpetologia**. 17: 87-100.
- LÉON, J.R., 1969. The systematics of frogs of the *Hyla rubra* group in Middle America. **Natural History Pub.** 18: 505-545.
- LIMA, L. P.; BASTOS, R. P.; GIARETTA, A. A., 2004. A new *Scinax* Wagler, 1830 of the *rostratus* group from Central Brasil (Amphibia, Anura, Hylidae). **Arquivos do Museu Nacional**. 62: 505-512.
- LOUGHEED, S. C.; AUSTIN, J. D.; BOGART, J. P.; BOAG, P. T. & CHEK, A. A., 2006. Multi-character perspectives on the evolution of intraspecific differentiation in a neotropical hylid frog. **BMC Evolutionary Biology**. 6(23): 1-16.
- LUTZ, B., 1954. Anfíbios Anuros do Distrito Federal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 52(1): 155-238.
- LUTZ, B., 1968. New Brazilian forms of *Hyla*. **Pearce-Sellards Series. Texas Memorial Museum. Austin**. 10: 3-18.
- LUTZ, B., 1973. Brazilian Species of *Hyla*. **University of Texas Press, Austin**. 260p.
- MARTIN, P. R. & MCKAY, J. K., 2004. Latitudinal variation in genetic divergence of populations and the potential for future speciation. **Evolution**. 58(5): 938-945.
- MORAVEC, J.; TUANAMA, I. A.; PÉREZ-PEÑA, P. E. & LEHR, E., 2009. A new species of *Scinax* (Anura: Hylidae) from the area of Iquitos, Amazonian Peru. **South American Journal of Herpetology**. 4: 9-16.
- MORRISON, C. & HERO, J.-M., 2003. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. **Journal of Animal Ecology**. 72: 270-279.
- NABIL, A.; SARRA, F. & KHALED, S., 2009. Morphometric variation in the Tunisian Green Frog, *Rana saharica* (Anura: Ranidae). **African Zoology**. 44(2): 194-203.
- NABIL, A.; SARRA, F.; SLIM, B.-Y. & KHALED, S., 2010. Morphometric and karyological differentiation among populations of *Discoglossus pictus* (Discoglossidae: Anura) in eastern north Africa. **Annales Zoologici**. 60(1): 159-168.
- NABIL, A.; SARRA, F.; SLIM, B.-Y.; MERELLA, P. & KHALED, S., 2011. Morphological variation of the african green toad, *Bufo boulengeri* (Amphibia: Anura) in Tunisia. **Pakistan J. Zool.** 43(5): 921-926.
- NUNES, I. & POMBAL JR., J. P., 2010. A new *Scinax* Wagler (Amphibia, Anura, Hylidae) from the Atlantic rain forest remains of southern State of Bahia, north-eastern Brazil. **Amphibia-Reptilia**. 31: 347-353.
- NUNES, I.; KWET, A. & POMBAL JR., J. P. 2012. Taxonomic revision of the *Scinax*

alter species complex (Anura: Hylidae). **Copeia**. 2012: 554–569.

NUNES, I. & POMBAL JR., J. P., 2011. A new snouted treefrog of the speciose genus *Scinax* Wagler (Anura, Hylidae) from northeastern Brazil. **Herpetologica**. 67: 80–88.

NUNES, I.; CARVALHO JR., I. R. R. & PEREIRA, E. G., 2010. A new species of *Scinax* Wagler (Anura: Hylidae) from Cerrado of Brazil. **Zootaxa**. 2514: 24–34.

PEIXOTO, O.L., 1986. **Espécies bromelígenas do gênero *Ololygon*: o grupo “perpusilla”** (Amphibia, Anura, Hylidae). Ph.D. Thesis, Universidade de São Paulo, Brazil.

PEIXOTO, O.L., 1987. Caracterização do grupo “perpusilla” e revalidação da posição taxonômica de *Ololygon perpusilla perpusilla* e *Ololygon perpusilla v-signata* (Amphibia, Anura, Hylidae). **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**. 10(1–2): 37–49.

POMBAL JR., J.P. & GORDO, M., 1991. Duas novas espécies de *Hyla* da floresta atlântica no estado de São Paulo (Amphibia, Anura). **Memórias do Instituto Butantan**. 53(1):135–144.

POMBAL JR., J.P.; BASTOS, R.P. & HADDAD, C.F.B., 1995a. Vocalizações de algumas espécies do gênero *Scinax* (Anura, Hylidae) do sudeste do Brasil e comentários taxonômicos. **Naturalia**. 20: 213–225.

POMBAL JR., J.P.; HADDAD, C.F.B. & KASAHARA, S., 1995b. A new species of *Scinax* (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil, with comments on the genus. **Journal of Herpetology**, 29(1): 1-6.

PUGLIESE, A.; BAÊTA, D. & POMBAL JR., J. P., 2009. A new species of *Scinax* (Anura: Hylidae) from rocky montane fields in southeastern and central Brazil. **Zootaxa**. 2269: 53–64.

VAZ-SILVA, W.; POLI, F.C. & SANTOS, F.J.M., 2006. NOTES ON GEOGRAPHIC DISTRIBUTION. **Check List**. 2(1): 34-35.

VERDADE, V. K. & RODRIGUES, M. T., 2007. Taxonomic Review of *Allobates* (Anura, Aromobatidae) from the Atlantic Forest, Brazil. **Journal of Herpetology**. 41(4): 566-580.

VON SPIX, J. B., 1824. Animalia nova sive species novae testudinum et ranarum, quas in itinere per Brasiliam annis MDCCCXVII-MDCCCXX [...] **suscepto. Monachii: Hübschmann**. 53 p.

WAGLER, J. G., 1830. Natürliches System der Amphibien, mit vorangehender Classification der Säugetiere und Vögel. Ein Beitrag zur vergleichenden Zoologie. 1.0. **Cotta, München, Stuttgart, and Tübingen**. 354 p.

ANEXOS

Instruções para os autores da revista ZOOTAXA

Preparation of manuscripts

1) *General*. All papers must be in English. Authors whose native language is not English are encouraged to have their manuscripts read by a native English-speaking colleague before submission. Nomenclature must be in agreement with the [*International Code of Zoological Nomenclature*](#) (4th edition 1999), which came into force on 1 January 2000. Author(s) of species name must be provided when the scientific name of any animal species is first mentioned (the year of publication needs not be given; if you give it, then provide a full reference of this in the reference list). Authors of plant species names need not be given. Metric systems should be used. If possible, use the common font New Times Roman and use as little formatting as possible (use only **bold** and *italics* where necessary and indentions of paragraphs except the first). Special symbols (e.g. male or female sign) should be avoided because they are likely to be altered when files are read on different machines (Mac versus PC with different language systems). You can code them as m# and f#, which can be replaced during page setting. The style of each author is generally respected but they must follow the following general guidelines.

2) The **title** should be concise and informative. The higher taxa containing the taxa dealt with in the paper should be indicated in parentheses: e.g. A taxonomic revision of the genus *Aus* (Order: family).

3) The **name(s) of all authors** of the paper must be given and should be typed in the upper case (e.g. ADAM SMITH, BRIAN SMITH & CAROL SMITH). The address of each author should be given in *italics* each starting a separate line. E-mail address(es) should be provided if available.

4) The **abstract** should be concise and informative. Any new names or new combinations proposed in the paper should be mentioned. Abstracts in other languages may also be included in addition to English abstract. The abstract should be followed by a list of **key words** that are not present in the title. Abstract and key words are not needed in correspondence.

5) The arrangement of the **main text** varies with different types of papers (a taxonomic revision, an analysis of characters and phylogeny, a catalogue etc.), but should usually start with an **introduction** and end with a list of **references**. References should be cited in the text as Smith (1999), Smith & Smith (2000) or Smith *et al.* (2001) (3 or more authors), or alternatively in a parenthesis (Smith 1999; Smith & Smith 2000; Smith *et al.* 2001). All literature cited in the text must be listed in the references in the following format (see a [sample page here](#) in PDF).

A) **Journal paper:**

Smith, A. (1999) Title of the paper. *Title of the journal in full*, volume number, page range.

B) **Book chapter:**

Smith, A. & Smith, B. (2000) Title of the Chapter. *In*: Smith, A, Smith, B. & Smith, C. (Eds), *Title of Book*. Publisher name and location, pp. x–y.

C) **Book:**

Smith, A., Smith, B. & Smith, C. (2001) *Title of Book*. Publisher name and location, xyz pp.

D) **Internet resources:**

Author (2002) Title of website, database or other resources, Publisher name and location (if indicated), number of pages (if known). Available from: <http://xxx.xxx.xxx/> (Date of access).

Dissertations resulting from graduate studies and non-serial proceedings of conferences/symposia are to be treated as books and cited as such. Papers not cited must not be listed in the references.

Please note that:

- (1) **journal titles must be written in full (not abbreviated)**
- (2) **journal titles and volume numbers are followed by a ","**
- (3) **page ranges are connected by "n dash", not hyphen "-", which is used to connect two words.**

For websites, it is important to include the last date when you see that site, as it can be moved or deleted from that address in the future.

On the use of dashes: (1) Hyphens are used to link words such as personal names, some prefixes and compound adjectives (the last of which vary depending on the style manual in use). (2) En-dash or en-rule (the length of an ‘n’) is used to link spans. In the context of our journal that means numerals mainly, most frequently sizes, dates and page numbers (e.g. 1977–1981; figs 5–7) and also geographic or name associations (Murray–Darling River; a Federal–State agreement). (3) Em-dash or em-rule (the length of an ‘m’) are used far more infrequently, and are used for breaks in the text or subject, often used much as we used parentheses. In contrast to parentheses an em-dash can be used alone; e.g. What could these results mean—that Niel had discovered the meaning of life? En-dashes and em-dashes should not be spaced.

6) Legends of **illustrations** should be listed after the list of references. Small illustrations should be grouped into plates. When preparing illustrations, authors should bear in mind that the journal has a matter size of 25 cm by 17 cm and is printed on A4 paper. For species illustration, line drawings are preferred, although good quality B&W or colour photographs are also acceptable. See a guide [here](#) for detailed information on preparing plates for publication.

7) **Tables**, if any, should be given at the end of the manuscript. Please use the table function in your word processor to build tables so that the cells, rows and columns can remain aligned when font size and width of the table are changed. Please do not use Tab key or space bar to type tables.

8) **Keys** are not easy to typeset. In a typical dichotomous key, each lead of a couplet should be typed simply as a paragraph as in the box below:

1 Seven setae present on tarsus I; four setae present on tibia I; leg I longer than the body;
legs black in color ... Genus A

- Six setae present on tarsus I; three setae present on tibia I; leg I shorter than the body;
legs brown in color ... 2

2 Leg II longer than leg I ... Genus B

- Leg II shorter than leg I ... Genus C