

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

VARIAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DA ESPÉCIE

Dendropsophus minutus (AMPHIBIA, ANURA, HYLIDAE)

EM SUA ÁREA DE OCORRÊNCIA NO BRASIL

SUÉLEN HELENA MARTINS MELO

São Carlos, SP

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

VARIAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DA ESPÉCIE

Dendropsophus minutus (AMPHIBIA, ANURA, HYLIDAE)

EM SUA ÁREA DE OCORRÊNCIA NO BRASIL

Suélen Helena Martins Melo

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências, Área de concentração em Ecologia e Recursos Naturais

Orientador: Prof. Dr. Julio Cesar Garavello

Co-orientador: Prof. Dr. Célio Fernando Baptista Haddad (UNESP)

São Carlos, SP

2019

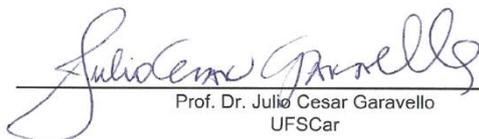


UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

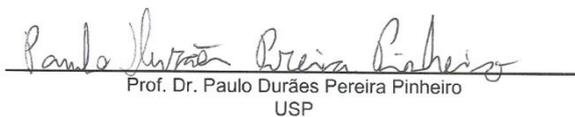
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Folha de Aprovação

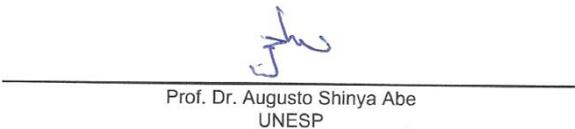
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Suélen Helena Martins Melo, realizada em 02/09/2019:


Prof. Dr. Julio Cesar Garavello
UFSCar


Profa. Dra. Odete Rocha
UFSCar


Prof. Dr. Paulo Durães Pereira Pinheiro
USP


Prof. Dr. Alexandre Kannebley de Oliveira
UNICEP


Prof. Dr. Augusto Shinya Abe
UNESP

“Our ignorance of the laws of variation is profound.”
“A nossa ignorância com respeito às leis da variação é profunda.”

Charles Darwin

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de São Carlos – UFSCar e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais – PPG-ERN pelo apoio concedido na realização de meu doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

Ao Prof. Dr. Julio Cesar Garavello, por sua paciência, compreensão e ensinamentos durante todos esses anos. Pela confiança depositada e pela oportunidade em desenvolver o mestrado e doutorado em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. Célio F. B. Haddad, pela honra em ser orientada por um pesquisador que tanto admiro. Pela oportunidade de fazer parte de seu laboratório, concretizando um sonho! Agradeço também por me apresentar à espécie *Dendropsophus minutus* e seus encantos crípticos.

Ao Dr. Délio Baêta por todo auxílio no desenvolvimento deste trabalho, por me ensinar e acompanhar em trabalhos de campo, pela ajuda em organizar as ideias e pelas revisões de textos.

À Dra. Ariadne Fares Sabbag, pelos vários anos de amizade e ensinamentos. Por sua paciência, disponibilidade e, principalmente, por sua partilha do saber. Sem sua ajuda esta tese não teria sido concretizada.

Sou imensamente grata ao Dr. Alexandre Kannebley de Oliveira, que acompanhou (e guiou também) minha trajetória científica ao longo de treze anos. Agradeço pela orientação desde a graduação, pela troca de conhecimentos, pela confiança e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Julio Cesar Garavello, ao Prof. Dr. Célio F. B. Haddad, ao Prof. Dr. Alexandre Kannebley de Oliveira, à Profa. Dra. Odete Rocha, ao Prof. Dr. Augusto Abe, ao Dr. Paulo D. P. Pinheiro e à Profa. Dra. Sônia Buck por aceitarem o convite para serem membros da comissão julgadora deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alexandre Kannebley de Oliveira, ao Prof. Dr. Rhainer Guillermo Nascimento Ferreira e à Profa. Dra. Odete Rocha pelas sugestões desde o exame de qualificação deste trabalho.

Ao Dr. Mark-Oliver Rödel e Dr. Frank Tillack pela cortesia em ceder fotos e informações sobre os espécimes tipo depositados no Museum für Naturkunde, na Alemanha.

À Dra. Mariana Lúcio Lyra, aos responsáveis pelo Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS – UNESP, Rio Claro), e à Macrogen por tornarem possíveis as análises moleculares. À Dra. Mariana Lúcio Lyra agradeço também pelos ensinamentos e auxílio em várias etapas deste trabalho.

Ao Dr. Miguel Vences pelos dados fornecidos referentes à molecular e distribuição de *D. minutus*.

Aos companheiros de laboratório CFBH, em Rio Claro, SP, sempre dispostos a auxiliar com materiais, espécimes, dados, conversas e companhias de agradáveis em almoços e cafés.

Agradeço ao Dr. João Gabriel Ribeiro Giovanelli, Dr. Thiago Ribeiro de Carvalho e ao Dr. Pedro Paulo Goulart Taucce pela ajuda com dados, análises e discussões sobre *D. minutus*.

Agradeço às pessoas que me auxiliaram nas coleções herpetológicas: Dr. Taran Grant, Dra. Aline Staskowian, André e Francisco (MZUSP); Prof. Dr. Paulo Garcia e alunos (UFMG); Prof. Dr. Tiago Gomes dos Santos e Dra. Suelen da Silva Alves Saccol (UFSM); Prof. Dr. Marcelo Gordo, Prof. Dr. Marcelo Menin, Alexandre Pinheiro de Almeida e Rommel Roberto Rojas Zamora (UFAM); Prof. Dr. Luis Felipe Toledo e Karina Rebelo (ZUEC); Prof. Dr. José P. Pombal Jr. e Dra. Manoela Woitovicz Cardoso (MNRJ).

Aos pesquisadores e às pesquisadoras que me auxiliaram nas coletas em campo: Ariadne Fares Sabbag, Délio Baêta, Ana Carolina Calijorne Lourenço, Nadya Pupin, André Capellato Melo, Vitor Sivaldo Moreno, Rafael Maribelto da Costa, Suelen da Silva Alves Saccol, Mathias Malleret, Rommel Roberto Rojas Zamora e Alexandre Pinheiro de Almeida.

Às pessoas que permitiram minha pesquisa e coleta em campo: Eric e equipe da “Cachaçaria Fuzuê” (Rio Claro, SP), equipe de segurança do “Ecologie Residencial Itatiba” (Itatiba, SP), Marciana e “Chácara Santa Clara” (Pouso Alegre, MG), Roberto Hache, Iara Reis de

Carvalho, Ronir Jonas Muger da Silva, Deucyles Soares Filho, Marco Aurélio e equipe do sítio “Paraíso” (Nova Friburgo, RJ), Sr. Aristides e equipe da “Fazenda das Araucárias” (Piraquara, PR).

À Roseli Maria Foratto agradeço pela amizade e conversas sobre a intrigante espécie *Dendropsophus minutus*, a qual nós dedicamos anos de nossas vidas.

Ao André Capellato Melo agradeço pela leitura crítica da tese, pelo seu apoio e seu companheirismo em todos os momentos.

Ao psicólogo Rodrigo Humberto Pedrazzani Montero, à terapeuta Viviane da Silva e ao instrutor de hipismo Rogério Fernando Radaelli agradeço por me auxiliarem a ter foco, coragem e serenidade durante estes anos.

À Vera Lúcia Capellato Melo, Mariane Melo, Caroline Melo, Filipe Netto Cirelli e Eduardo Leão, agradeço pelas conversas e por me mostrarem uma nova maneira de ver o mundo.

Agradeço aos meus pais Benedito Martins Netto e Maria Aparecida Porfírio Martins por tudo. Agradeço à Sandra Martins Wenzel, ao Nivaldo Wenzel, ao Vinnícius Wenzel, à Giovanna Wenzel, à Rebeca Helena, ao Sérgio Martins, à Vanessa Simão Martins, à Camila Martins, à Isabela Martins, à Silviane Martins do Valle, ao Marcelo do Valle, ao Murilo do Valle, à Mariana do Valle, à Morena Flor do Valle, à Solaine Martins Zambelli, ao Gustavo Zambelli e ao Felipe Zambelli pelos momentos de descontração e gargalhadas.

A todos que colaboraram com este trabalho, direta ou indiretamente, agradeço.

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| 1. Introdução | 1 |
| 2. Sobre a taxonomia de <i>Dendropsophus minutus</i> | 4 |
| 2.1. Breve histórico taxonômico da subfamília <i>Dendropsophinae</i> e do gênero <i>Dendropsophus</i> | 4 |
| 2.2. Sobre <i>Dendropsophus minutus</i> e espécies sinônimas..... | 7 |
| 3. Hipótese..... | 14 |
| 4. Objetivos..... | 15 |
| 4.1 Objetivo geral..... | 15 |
| 4.2 Objetivos específicos..... | 15 |
| 5. Material e Métodos..... | 16 |
| 5.1. Material examinado..... | 16 |
| 5.2. Análise morfométrica..... | 17 |
| 5.3. Análise do padrão de coloração | 21 |
| 5.4. Análise molecular..... | 23 |
| 6. Resultados..... | 28 |
| 6.1. Variação da morfometria em <i>Dendropsophus minutus</i> de diferentes fitofisionomias brasileiras..... | 28 |
| 6.2. Sobre o padrão dorsal: forma “minuta”, forma “bivittata” e exemplares sem padrão de coloração..... | 38 |
| 6.3. Filogenia de <i>Dendropsophus minutus</i> | 44 |
| 7. Discussão..... | 55 |
| 7.1. Comparação morfológica e molecular entre populações do “complexo <i>D. minutus</i> ” de diferentes fitofisionomias..... | 55 |
| 7.2. <i>Dendropsophus goughi</i> e <i>Dendropsophus minutus</i> | 73 |
| 8. Conclusões..... | 78 |
| 9. Referências Bibliográficas..... | 80 |
| ANEXO 1..... | 99 |
| ANEXO 2..... | 103 |
| ANEXO 3..... | 104 |
| ANEXO 4..... | 105 |
| Material suplementar I..... | 106 |
| Material suplementar II..... | 121 |
| Material suplementar III..... | 133 |

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Cinco exemplares sítipos de *Hyla minuta* (atualmente *Dendropsophus minutus*) coletados em Nova Friburgo, RJ. Depositados no Museu de História Natural (Museum für Naturkunde) em Berlim, Alemanha (ZMB 7456, 59380, 59381, 59382 e 59383). Foto de Frank Tillack.....8
- Figura 2. Dois exemplares sintipos de *Hyla minuta* (atualmente *Dendropsophus minutus*) coletados na região do Rio de Janeiro, RJ. Depositados no Museu de História Natural (Museum für Naturkunde) em Berlim, Alemanha (ZMB 7300 e 59379). Foto de Frank Tillack.....8
- Figura 3. Representação dos padrões de coloração dorsal observados em *Dendropsophus minutus*: forma “minuta” à esquerda (com desenho em formato de ampulheta) e forma “bivittata” à direita (com duas listras dorsais longitudinais).....22
- Figura 4. Espécimes exemplificando desenhos dorsais classificados como “sem padrão”. (A) *Dendropsophus minutus* coletado em São Carlos, SP (SH06), com CRC 23,07 mm; (B) *Dendropsophus aff minutus* (*D. goughi*) coletado em Manaus, AM (SH54), com CRC 24,12 mm.....22

Figura 5. Análise de Componentes Principais (PCA) com a morfometria de *Dendropsophus minutus* diferenciada por domínios fitogeográficos. Cor azul escura: Indivíduos da região Amazônica ao norte do rio Amazonas; cor azul clara: região Amazônica ao sul do rio Amazonas; cor roxa: indivíduos da região da Caatinga; cor amarela: indivíduos da região de Cerrado; cor verde escura: indivíduos da região de Mata Atlântica; cor verde clara: indivíduos da localidade tipo da espécie (Nova Friburgo, RJ); cor rosa: indivíduos da região de Pampa.....34

Figura 6. Análise de Variação Canônica (CVA) com a morfometria de *Dendropsophus minutus* diferenciada por domínios fitogeográficos. Cor azul escura: Indivíduos da região Amazônica ao norte do rio Amazonas; cor azul clara: região Amazônica ao sul do rio Amazonas; cor roxa: indivíduos da região da Caatinga; cor amarela: indivíduos da região de Cerrado; cor verde escura: indivíduos da região de Mata Atlântica; cor verde clara: indivíduos da localidade tipo da espécie (Nova Friburgo, RJ); cor rosa: indivíduos da região de Pampa.....35

Figura 7. Análise de componentes principais (PCA) com a morfometria dos espécimes identificados como *Dendropsophus minutus* classificados pelo padrão de colorido dorsal: forma “minuta” (em azul), forma “bivittata” (em vermelho) e “sem padrão” (em verde).....41

Figura 8. Análise de componentes principais (PCA) com a morfometria dos espécimes identificados como *Dendropsophus minutus* classificados pelo padrão de colorido dorsal: forma “minuta” (em azul) e forma “bivittata” (em vermelho).....42

Figura 9. Mapa de distribuição de *Dendropsophus minutus* analisados, classificados pelo padrão de colorido dorsal. Em azul, indivíduos que possuem forma “minuta”, com desenho dorsal em formato de ampulheta. Em vermelho, indivíduos que possuem forma “bivittata”, com duas listras longitudinais no dorso. Em verde, espécimes que foram classificados como “sem padrão” de desenho dorsal.....43

Figura 10A. Árvore filogenética dos espécimes de *Dendropsophus minutus* com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Ramos com o símbolo “//” foram horizontalmente encurtados e não seguem a escala. Terminais em preto: sequências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014), com números da linhagem correspondente (fora do complexo *D. minutus* – linhagens de 1 a 18; complexo *D. minutus* – linhagens 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 e 28). Terminais coloridos correspondem a espécimes com morfologia analisada, registrados para as regiões: Amazônia (vermelho), Caatinga (verde claro) e Mata Atlântica (verde escuro). Terminais verde escuro negrito são amostras provenientes da localidade tipo de *Dendropsophus minutus* (município de Nova Friburgo, estado Rio de Janeiro).....45

Figura 10B. Árvore filogenética dos espécimes de *Dendropsophus minutus* com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Terminais em preto: sequências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014), com números da linhagem correspondente (complexo *D. minutus* – linhagens 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 e 36). Terminais coloridos correspondem a espécimes com morfologia analisada, registrados para as regiões: Amazônia (em vermelho), Caatinga (em verde claro), Cerrado (em azul) e Mata Atlântica (em verde escuro).....46

Figura 10C. Árvore filogenética dos espécimes de *Dendropsophus minutus* com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Terminais em preto: sequências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014), com números da linhagem correspondente (complexo *D. minutus* – linhagens 37, 38, 39, 41, 42 e 43). Terminais coloridos correspondem a espécimes com morfologia analisada, registrados para as regiões: Cerrado (em azul), Mata Atlântica (em verde escuro) e Pampa (roxo).....47

Figura 10D. Árvore filogenética dos espécimes com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Terminais em preto: sequências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014), com números da linhagem correspondente (complexo *D. minutus* – linhagens 39 e 40). Terminais coloridos correspondem a espécimes com morfologia analisada, registrados para as regiões: Cerrado (azul), Mata Atlântica (verde escuro) e Pampa (roxo).....48

Figura 11. Árvore filogenética dos espécimes de *Dendropsophus minutus* com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Ramos com o símbolo “//” foram horizontalmente encurtados e não seguem a escala. Sequências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014) adicionadas às sequências analisadas no presente trabalho. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Ramos colapsados representam os agrupamentos de linhagens: G1 (linhagens 19 a 20); G2 (linhagem 21); G3 (linhagem 22); G4 (linhagens de 23 a 28); G5 (linhagens de 29 a 34); G6 (linhagens 35 e 36); G7 (linhagem 37); G8 (linhagem 38); G9 (linhagem 39); G10 (linhagem 40); e G11 (linhagens de 41 a 43).....51

Figura 12. Ilustração de J. Green disponível em Boulenger (1911) dos espécimes de *Hyla goughi* observados pelo autor. Figura corresponde a “Plate LXIV” em Boulenger (1911).....74

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Valores de Hottelling (p) comparando valores morfométricos de populações de <i>Dendropsophus minutus</i> de diferentes fitofisionomias: região Amazônica ao norte do rio Amazonas (AM1); região Amazônica ao sul do rio Amazonas (AM2); região de Caatinga (CA); região de Cerrado (CE); região de Mata Atlântica (MA); localidade tipo da espécie – Nova Friburgo, RJ (LT); região de Pampa (PP). Valores significativos ($p < 0.05$) destacados em vermelho..... | 36 |
| Tabela 2. Distâncias de Mahalanobis comparando distâncias morfométricas das populações de <i>Dendropsophus minutus</i> de diferentes fitofisionomias: região Amazônica ao norte do rio Amazonas (AM1); região Amazônica ao sul do rio Amazonas (AM2); região de Caatinga (CA); região de Cerrado (CE); região de Mata Atlântica (MA); localidade tipo da espécie – Nova Friburgo, RJ (LT); região de Pampa (PP)..... | 37 |
| Tabela 3. Matriz de distância genética entre grupos de linhagens de <i>Dendropsophus minutus</i> aqui analisados. G1 (linhagens 19 a 20), G2 (linhagem 21), G3 (linhagem 22), G4 (linhagens de 23 a 28), G5 (linhagens de 29 a 34), G6 (linhagens 35 e 36), G7 (linhagem 37), G8 (linhagem 38), G9 (linhagem 39), G10 (linhagem 40), e G11 (linhagens de 41 a 43). Valores na diagonal em cinza correspondem às médias dos valores das distâncias intragrupos. O símbolo “-” corresponde a grupos formados por amostra única..... | 52 |

RESUMO

Dendropsophus minutus é um hílideo amplamente distribuído na Região Neotropical que apresenta variação morfológica considerável ao longo de sua área de ocorrência. Estudos moleculares recentes revelaram alta diversidade de clados sob o nome *Dendropsophus minutus*. Assim sendo, buscamos identificar padrões de polimorfismos em *Dendropsophus minutus* ao longo da distribuição da espécie em diferentes fitofisionomias brasileiras: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pampa. Estudamos a variação morfológica em *Dendropsophus minutus*, analisando a morfometria e o padrão de colorido dorsal de machos depositados em coleções herpetológicas brasileiras. Adicionalmente, amplificamos o fragmento de gene mitocondrial 16S para alocar espécimes analisados morfometricamente à árvore filogenética da literatura. Apesar de haver morfotipos simpátricos em *Dendropsophus minutus*, nós observamos a ausência do padrão dorsal da forma “bivittata” no Norte do Brasil, enquanto o padrão “minuta” não foi registrado no Sul do país. Esse estudo não diferenciou morfometricamente a espécie em sua distribuição no Brasil; porém, diferenciação molecular significativa em espécimes amazônicos atualmente identificados como *D. minutus* foi descrita, os quais se relacionaram fortemente às amostras do táxon *Dendropsophus goughi*.

ABSTRACT

Dendropsophus minutus is a widely distributed hylid in the Neotropical Region that have significant morphological variation along its area of occurrence. Recent molecular studies revealed high diversity of clades under the name *Dendropsophus minutus*. By this reason, we sought to identify patterns of polymorphisms in *Dendropsophus minutus* along the species distribution through the different Brazilian phytogeographies: Amazon, Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest and Pampa. We studied the morphological variation in *Dendropsophus minutus* by analyzing the morphometry and dorsal color pattern of males housed in Brazilian herpetological collections. Additionally, we amplified the 16S mitochondrial gene fragment to allocate morphometrically analyzed specimens into the phylogenetic tree from the literature. Even though there are sympatric morphotypes in *Dendropsophus minutus*, we observe the absence of the dorsal pattern “bivittata” form in Northern Brazil, while the “minuta” pattern was not recorded in the South of the country. This study did not distinguish morphometrically the species through its distribution in Brazil; however, significant molecular differentiation in Amazonian specimens currently identified as *Dendropsophus minutus* was described, that are strongly related to samples of the taxon *Dendropsophus goughi*.

1. Introdução

Dendropsophus minutus é um hilídeo de pequeno porte amplamente distribuído na Região Neotropical, caracterizado como uma espécie polimórfica em relação ao padrão de coloração dorsal ao longo de sua extensão geográfica (e.g. Cochran, 1955; Lutz, 1973; Cardoso, 1981; Cardoso & Haddad, 1984). Registrada atualmente em localidades a leste dos Andes, desde a região das Guianas até a Argentina e Uruguai, passando por Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Brasil e Bolívia (Frost, 2019).

A espécie apresenta polimorfismo simpátrico no padrão de desenho dorsal descrito na literatura (e.g. Cochran, 1955; Lutz, 1973; Cardoso & Haddad, 1984; Hawkins et al., 2007). Variações osteológicas interpopulacionais foram descritas por Kaplan (1994) que, ao comparar populações de São Paulo e Pará no Brasil com populações de Napo no Equador e de Meta na Colômbia, sugeriu que *Dendropsophus minutus* poderia abranger um complexo de espécies.

Variações acústicas no táxon estão descritas em Köhler (2000), relatando semelhanças acústicas entre cantos da espécie na Bolívia e em Minas Gerais descritos por Haddad et al. (1988), semelhantes também com cantos descritos por Heyer et al. (1990) para a região da Boracéia, São Paulo, porém enfatizou diferenças expressivas quando compara cantos da Bolívia com os cantos relatados por Donnelly & Myers (1991) de populações da Venezuela. Assim como Kaplan (1994), Köhler (2000) sugere a possibilidade de que a diversidade do táxon *D. minutus* esteja subestimada.

Mais recentemente, a alta diversidade molecular dentro do taxon foi descrita por Gehara et al. (2014), que analisaram os fragmentos de gene *16S* e *COI* de diversas populações de *D. minutus* e revelaram alta diversidade dentro do taxon, reconhecendo 25 clados divergentes inseridos no “complexo *D. minutus*”. Estes clados se mostraram divididos entre linhagens amplamente difundidas e outras possivelmente microendêmicas, caracterizando a complexidade do taxon *D. minutus*. Dessa forma, Gehara et al. (2014) sugerem a possibilidade da ocorrência de espécies crípticas em *D. minutus*.

Com a alta diversidade genética encontrada em um único taxon, trabalhos questionam a existência de uma única espécie amplamente distribuída (Wynn & Heyer, 2001; Gehara et al., 2014). Segundo Wynn & Heyer (2001), muitas espécies amplamente distribuídas se evidenciam como espécies proximalmente relacionadas, porém geneticamente isoladas. Além disso, estudos com padrões espaciais de variação de anfíbios neotropicais amplamente distribuídos podem expressar processos ecológicos dos táxons e permitir uma nova caracterização de seus limites espaciais (e.g. Wynn & Heyer, 2001; Cassini et al., 2010; Rivadeneira et al., 2018). A delimitação bem fundamentada de espécies é essencial para a realização de estratégias eficientes para a conservação e o manejo da biodiversidade.

Com isso, em vista da hipótese do táxon *D. minutus* compreender outras espécies sob o mesmo nome, buscamos padrões de variação associados à distribuição espacial pelo Brasil a fim de apontarmos padrões de polimorfismos morfológicos e genéticos intraespecíficos. Analisamos a variação morfológica, morfométrica e molecular em

Dendropsophus minutus e associamos nossos resultados aos estudos moleculares publicados por Gehara et al. (2014) referentes à espécie.

Como esclarecimento de definições aos termos aqui utilizados, o termo “espécie” concorda com o conceito ecológico de espécie, cujas populações compartilham os mesmos nichos efetivos; assim como com o conceito biológico, com cruzamento de populações, podendo ocorrer isolamento reprodutivo se houver, por exemplo, barreiras geográficas (De Queiroz, 2007). O termo “polimorfismo” pode ser definido pela ocorrência simultânea de vários fenótipos ou genótipos descontínuos em uma população (Mayr, 1963), enquanto o termo “espécies crípticas” pode ser definido por duas ou mais espécies distintas erroneamente classificadas sob um único taxon (Bickford et al., 2006).

2. Sobre a taxonomia de *Dendropsophus minutus*

2.1. Breve histórico taxonômico da subfamília Dendropsophinae e do gênero *Dendropsophus*

O gênero *Hyla* foi originalmente descrito por Laurenti (1768) que o caracterizou como anfíbios anuros de tegumento liso, ventre claro com pontos esbranquiçados, pernas longas e discos adesivos adaptados à vida arborícola, entre outras características, tendo como espécie tipo *Hyla viridis* Laurenti, 1768 – atualmente *Hyla arborea* (Linnaeus, 1758) (Daudin, 1802). Rafinesque (1815) agrupou as espécies do gênero *Hyla* e reconheceu a família Hylidae para estas espécies.

O gênero *Dendropsophus* Fitzinger, 1843, por sua vez, foi descrito por Fitzinger (1843) para anfíbios registrados no continente americano, tendo *Hyla frontalis* Daudin, 1800 – atualmente sinônimo de *Dendropsophus leucophyllatus* (Beireis, 1783) (Daudin, 1802) – como a espécie tipo do gênero.

Kellogg (1932), estudando anfíbios anuros registrados para o México, considerou o gênero *Dendropsophus* Fitzinger, 1843 sinônimo de *Hyla*. O mesmo autor diferenciou *Hyla* dos demais gêneros incluídos em Hylidae principalmente pelos dedos das mãos e dos pés com discos adesivos livres ou palmados, mas com o último dígito sempre palmado.

Com isso, até o início do século XXI, a maioria das espécies da família Hylidae (Duellman, 1970) foi considerada pertencente ao gênero *Hyla*. Entretanto, esta família foi alvo de diversos rearranjos taxonômicos (e.g. Duellman, 1970; Faivovich et al., 2005; Duellman et al., 2016). O gênero *Hyla* era representado por mais de 300 espécies, distribuídas

entre climas tropicais e temperados, com exceção do deserto do Saara, na África, e ilhas do Oceano Pacífico.

Duellman & Cole (1965) estudando cromossomicamente espécies das famílias Hylidae e Centrolenidae, constataram que *Hyla ebraccata* Cope, 1874 (atualmente *Dendropsophus ebraccatus*) e *Hyla microcephala* Cope, 1886 (atualmente *Dendropsophus microcephalus*) apresentavam 15 pares de cromossomos, enquanto a maioria das espécies do gênero comumente apresentavam 12 pares. Os mesmos autores sugerem nesse trabalho que *Hyla phlebodes* Stejneger, 1906 (atualmente *Dendropsophus phlebodes*) igualmente apresenta 15 pares de cromossomos, porém a contagem foi inconclusiva (Duellman & Cole, 1965). Beçak (1968) encontrou 15 pares de cromossomos em *Hyla microps* Peters, 1872 (atualmente *Dendropsophus microps*) quando submeteu várias espécies de anuros a análises cromossômicas. Duellman (1970) submeteu várias espécies de hílideos a análises de cariótipos, acrescentando, dessa forma, as espécies *Hyla phlebodes* Stejneger, 1906 (atualmente *Dendropsophus phlebodes*) e *Hyla subocularis* Sunn, 1934 (atualmente *Dendropsophus subocularis*) entre as espécies de *Hyla* com 30 cromossomos. A partir de então, estudos caracterizaram outras espécies de *Hyla* apresentando cariótipos com 30 cromossomos (e.g. Duellman & Trueb, 1983; Kaiser et al., 1996).

Buscando uma melhor compreensão filogenética da família Hylidae, Faivovich et al. (2005) revisaram a sistemática da família focados nas relações da subfamília Hyliinae. Os autores reconheceram quatro tribos para a subfamília: Cophomantini, Lophiohylini, Hylini e Dendropsophini. Nesse mesmo trabalho, os autores recuperaram o

monofiletismo entre as espécies de *Hyla* que presumivelmente apresentam 15 pares de cromossomos, para as quais foi revalidado o gênero *Dendropsophus* Fitzinger, 1843. Assim, a tribo Dendropsophini compreendia os gêneros *Lysapsus* Cope, 1862; *Pseudis* Wagler, 1830; *Scarthyla* Duellman e De Sá, 1988; *Scinax* Wagler, 1830; *Sphaenorhynchus* Tschudi, 1838; *Xenohyla* Izecksohn, 1998; e *Dendropsophus* Fitzinger, 1843. As ausências de papilas linguais nas larvas e de saliências nupciais foram propostas como possíveis sinapomorfias morfológicas para a tribo (Faivovich et al., 2005).

Duellman et al. (2016), revisando as relações filogenéticas entre os hílideos, redefinem a família Hylidae elevando as tribos propostas por Faivovich et al. (2005) ao nível de subfamílias, reconhecendo, assim, sete subfamílias: Acridinae, Hylinae, Pseudinae, Lophyohylineae, Scinaxinae, Cophomantinae, e Dendropsophinae. A subfamília Dendropsophinae passou a compreender anuros arborícolas de pequeno a médio porte, pertencentes aos gêneros *Xenohyla*, apresentando 12 pares de cromossomos; e *Dendropsophus*, com 15 pares de cromossomos (Duellman et al., 2016).

Até o presente momento, são 110 espécies descritas na subfamília Dendropsophinae e 108 pertencem ao gênero *Dendropsophus* (Frost, 2019).

2.2. Sobre *Dendropsophus minutus* e espécies sinônimas

Dendropsophus minutus (Peters, 1872) foi originalmente descrito no gênero *Hyla* com base em seis exemplares coletados em Nova Friburgo, RJ (figura 1) e mais dois espécimes (figura 2) provenientes da região da cidade Rio de Janeiro, RJ. Peters (1872) caracterizou a espécie *Hyla minuta* com padrão de coloração dorsal geralmente apresentando desenho mais escuro com formato de ampulheta, cuja parte frontal é a porção mais larga e está localizada entre os olhos; também há uma mancha escura transversal por trás da ampulheta, por vezes com contorno brilhante com pontos de brancura; uma faixa curva branca na região do ânus, faixas transversais mais escuras no antebraço e nas tíbias; ventre e região inferior das coxas granular e incolor; e tímpano pouco visível.

Boulenger (1882) analisou os espécimes descritos por Peters (1872) na coleção de batráquios do Museu Britânico (“British Museum”), confirmando o desenho dorsal escuro em formato de ampulheta e outras características apontadas na descrição original, acrescentando o comprimento rostro-cloacal dos espécimes como sendo de 20 mm.



Figura 1. Cinco exemplares sítipos de *Hyla minuta* (atualmente *Dendropsophus minutus*) coletados em Nova Friburgo, RJ. Depositados no Museu de História Natural (Museum für Naturkunde) em Berlim, Alemanha (ZMB 7456, 59380, 59381, 59382 e 59383). Foto de Frank Tillack.

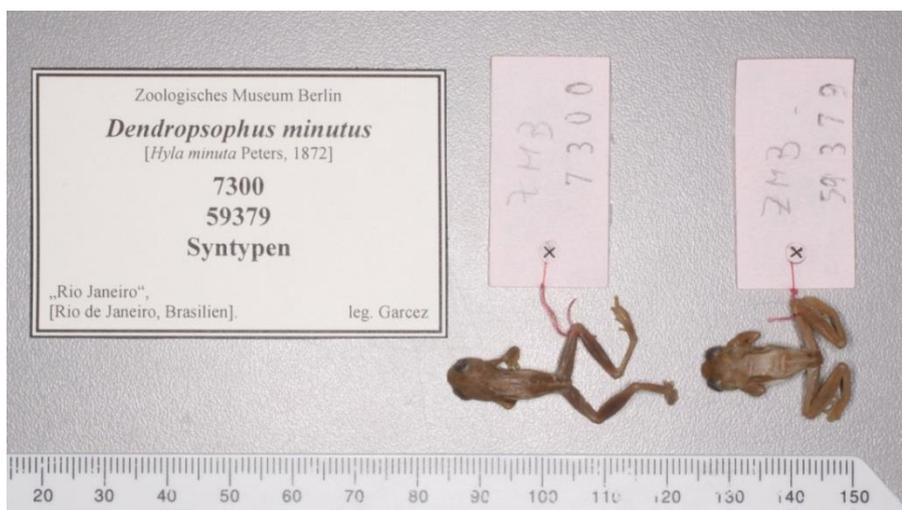


Figura 2. Dois exemplares sintipos de *Hyla minuta* (atualmente *Dendropsophus minutus*) coletados na região do Rio de Janeiro, RJ. Depositados no Museu de História Natural (Museum für Naturkunde) em Berlim, Alemanha (ZMB 7300 e 59379). Foto de Frank Tillack.

Revisando as espécies de anuros do Sudeste brasileiro, Cochran (1955) analisou exemplares de *Hyla minuta* provenientes de diferentes localidades, reconhecendo uma grande diversidade intraespecífica nesta espécie, principalmente em relação aos padrões de coloração dorsal e, apoiada pela falta de características diagnósticas estruturais, sinonimizou as seguintes espécies à *H. minuta*: *Hyla bivittata* Boulenger, 1888, *Hyla velata* Cope, 1887, *Hyla pallens* Lutz, 1925, *Hyla emrichi* Mertens, 1927 e *Hyla suturata* Miranda-Ribeiro, 1926.

Descrita por Boulenger (1888) com base em espécimes provenientes de Lages, Santa Catarina (SC), *Hyla bivittata* foi caracterizado pelo comprimento rostro-cloacal de 23 mm; tímpano pouco distinto; articulação tíbio-tarsal alcançando a borda anterior do olho ou o posterior do focinho; ventre e região inferior das coxas incolores e granulares. Quanto ao colorido dorsal, o autor destaca que a espécie é caracterizada por apresentar duas faixas paralelas escuras ao longo do dorso, por vezes unidas na região interorbital. Cochran (1955) examinou sintipos de *H. bivittata* e exemplares de outras localidades e, por falta de padrões que separassem *H. bivittata* e *H. minuta*, concluiu que estes nomes correspondem à mesma espécie.

Hyla velata, por sua vez, foi descrito por Cope (1887), a partir da análise de quatro espécimes coletados na Chapada dos Guimarães, local referido em Cope (1887) como “vila de ‘Chupada’”, a trinta milhas de “Cuyabá”. Cope (1887) caracteriza a espécie por possuir comprimento rostro-cloacal de até 23 mm; cabeça curta e ampla, com tímpano pouco distinto. Sobre a coloração da espécie, Cope (1887) descreveu-a com uma marca ampla no dorso, pintada e contornada de marrom escuro, que

se estende desde os olhos até o meio das costas; antebraço e tíbia com faixas transversais marrom-escuras e ventre claro.

Outra espécie considerada sinônimo de *Hyla minuta* por Cochran (1955) é *Hyla pallens* Lutz, 1925. Lutz (1925) caracterizou uma fêmea de 22 mm de comprimento rostro-cloacal pela cabeça larga e curta, coloração dorsal “café com leite” apresentando manchas escuras com contornos claros; ventre branco-amarelado e granular; membros traseiros com duas faixas transversais marrons, não encontradas nas coxas. Lutz (1925) destacou que a espécie é comumente encontrada no Rio de Janeiro e estados vizinhos. Cochran (1961), registrando espécimes tipo do Museu Nacional dos Estados Unidos (U. S. National Museum), relatou os espécimes tipo de *H. pallens* coletados por A. Lutz em 1921 (um espécime) e em 1925 (dois espécimes) na região de “Bom Sucesso”, Rio de Janeiro.

Miranda-Ribeiro (1926) descreveu *Hyla suturata* a partir de espécimes coletados em Teresópolis, RJ, discutindo uma proximidade com a espécie *Hyla goughi* Boulenger, 1911, descrita para Trinidad. Miranda-Ribeiro (1926) caracterizou detalhadamente *H. suturata*, destacando a coloração cinzenta no dorso e branca ventralmente; manchas dorsais escuras contornadas por linha branca, as quais formam triângulos opostos pelo vértice na cabeça e dorso; tímpano 1/8 do diâmetro ocular; articulação tíbio-tarsal chegando aos olhos; pernas com faixas transversais; pele lisa, translúcida, sub-granulosa no abdômen. Miranda-Ribeiro (1955) relatou quatro sintipos de *H. suturata* depositados no Museu Nacional do Rio de Janeiro. Segundo Frost (2019), Myers sinonimizou *H. suturata* a *H. pallens* em seus trabalhos em 1946.

Cochran (1955) sinonimizou *H. suturata* a *Hyla minuta* com base na análise de dois espécimes registrados para a região de Colônia Alpina, em Teresópolis, RJ.

Também sinonimizada por Cochran (1955) pela análise de espécimes tipo foi *Hyla emrichi*, descrita por Mertens em 1927 com localidade tipo para Porto Alegre, Rio Grande do Sul (RS). Além destas espécies, Cochran (1955) ainda mencionou “*Hyla bisittata (sic)*”, com referência a Baumann (1912) como sinônimo de *Hyla minuta*. Estudando anuros registrados para localidades brasileiras depositados no Museu de Berna, na Suíça (“Berner Naturhistorischen Museums”), Baumann (1912) registrou *H. minuta* para o Rio de Janeiro e regiões montanhosas e relatou “*Hyla bisittata*” para a região de Santa Catarina e formações de planalto. Como anotado por Cochran (1955), o epíteto específico “bisittata” provavelmente reflete um erro na grafia deste táxon no trabalho de Baumann (1912), podendo significar confusão com *Hyla bivittata* Boulenger, 1888, descrita para Lages, em Santa Catarina.

Lutz (1973), descrevendo a morfologia das espécies de anuros brasileiros pertencentes ao gênero *Hyla*, determinou que, além dos taxons sinônimos apontados por Cochran (1955), as espécies *Hyla goughi* Boulenger, 1911 e *Hyla uruguayana* Schmidt, 1944 são sinônimos de *H. minuta*.

Analisando anuros coletados por Dr. Lewis H. Gough em Trinidad, Boulenger (1911) descreveu *Hyla goughi* pela primeira vez com base em vários exemplares, destacando o seu pequeno porte em relação às outras espécies do gênero *Hyla*. O autor a caracterizou pela cabeça levemente mais ampla que longa; tímpano fracamente distinto, medindo

1/3 do diâmetro do olho; articulação tíbio-tarsal alcança entre os olhos e o fim do focinho; e ventre branco ou amarelado. Sobre a coloração de *H. goughi*, Boulenger (1911) fornece uma ilustração de espécimes descritos com um desenho escuro dorsal podendo apresentar formato de ampulheta, contornada com linha escura ou clara. Boulenger (1911) relatou também um exemplar onde o desenho dorsal correspondia a duas bandas paralelas longitudinais; entretanto, não há ilustrações de tal padrão dorsal em seu trabalho. Lutz (1973) sugeriu que a ampla variação de desenhos dorsais poderia ser a causa de tantas espécies sinonimizadas a *Hyla minuta*; e enfatiza a falta de caracteres diagnósticos para a espécie, ampliando a distribuição de *H. minuta* desde Trinidad até o sul do Brasil, passando pelo Uruguai e Misiones, na Argentina. Gehara et al. (2014) encontraram significativa divergência molecular entre os fragmentos de gene mitocondrial *16S* e *COI* entre amostras denominadas *Dendropsophus goughi*, provenientes de Trinidad e Tobago, com amostras de *Dendropsophus minutus*. Subsequentemente, *D. goughi* foi removido da sinonímia de *D. minutus* e validado como uma unidade taxonômica independente (Gehara et al., 2014; Hedges et al., 2019; Frost, 2019).

Descrito por Schmidt (1944), o táxon *Hyla uruguayana* compreende espécimes coletados em Quebrada de los Cuervos, Departamento de Treinta y Tres, no Uruguai. Schmidt (1944) apresentou a morfologia de *H. uruguayana* e destacou que não está relacionada com outras espécies do mesmo gênero registradas para o sul do Brasil. Barrio (1967) designou *H. uruguayana* Schmidt, 1944 como a forma “bivittata” de *Hyla minuta*, cujo padrão dorsal se assemelhava aos descritos por Boulenger (1888) para

H. bivittata. Foi posteriormente removida da sinonímia de *H. minuta* por Langone (1990).

De acordo com Frost (2019), atualmente são reconhecidos cinco sinônimos para *D. minutus*: *Hyla velata*, com localidade tipo na Chapada dos Guimarães, no estado do Mato Grosso; *Hyla bivittata*, com localidade tipo em Lages, estado de Santa Catarina; *Hyla pallens*, com localidade tipo para “Bomsucesso”, no município Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro; *Hyla suturata* com localidade tipo para Teresópolis, estado do Rio de Janeiro; e *Hyla emrichi*, cuja localidade tipo é Porto Alegre, estado do Rio Grande do Sul.

3. Hipótese

O estudo da variação morfológica de *Dendropsophus minutus* realizado através de exemplares depositados em coleções científicas associado à variação molecular encontrada no fragmento mitocondrial 16S da espécie, testou a hipótese de *D. minutus* representar um complexo de múltiplas espécies ao longo de sua distribuição espacial pelo Brasil. Integrando nossos resultados aos estudos moleculares disponíveis em Gehara et al. (2014), buscamos polimorfismos intraespecíficos, estabelecendo padrões de distribuição geográfica para a comparação de diferentes populações de *Dendropsophus minutus*.

4. Objetivos

4.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é analisar a variação morfológica existente em *Dendropsophus minutus* e no fragmento de gene mitocondrial 16S da espécie, buscando correlacionar padrões de variação com a distribuição espacial das populações em diferentes biomas brasileiros.

4.2 Objetivos específicos

- 1- Observar e descrever caracteres morfológicos e morfométricos de exemplares fixados identificados como *Dendropsophus minutus*.
- 2- Ampliar as amostras filogenéticas da espécie com base no fragmento mitocondrial 16S de *Dendropsophus minutus* de diferentes fitofisionomias brasileiras.
- 3- Analisar padrões de variação ao longo da distribuição geográfica dos espécimes estudados.
- 4- Relatar conclusões taxonômicas resultantes destas análises.
- 5- Comparar os resultados obtidos com estudos publicados referentes à espécie *Dendropsophus minutus*.

5. Material e Métodos

5.1. Material examinado

Coletamos 30 indivíduos machos adultos de *Dendropsophus minutus*, correspondendo a um exemplar coletado no município de Manaus, AM (3°06'04.19"S; 59°58'24.24"O); seis exemplares no município de Pouso Alegre, MG (22°15'29.42"S; 46°0'50.16"O); dois exemplares da localidade tipo Nova Friburgo, RJ (22°23'52.53"S; 42°22'02.14"O); nove exemplares do município de Itatiba, SP (23°03'16.28"S; 46°53'21.94"O); três espécimes provenientes de Rio Claro, SP (22°17'31.45"S; 47°30'20.72"O); um espécime coletado em São Carlos, SP (21°55'51.72"S; 47°52'51.72"O); e oito exemplares do município de Santa Maria, RS (29°38'48.10"S; 53°55'04.33"O).

Trabalhos de campo com coletas de espécimes foram autorizados pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, Brasil, através das licenças de coleta números 50279-1, 50279-2, 50279-3, 50279-5, 7788-1, 7809-1 e 7886-1.

Os espécimes coletados foram eutanasiados com anestésico à base de lidocaína (Xilocaína® 5%). Retiramos tecido muscular de membros inferiores para extração de DNA. Fixamos os indivíduos em formalina 10%, os quais encontram-se depositados na Coleção de anfíbios Célio F. B. Haddad (CFBH), na Universidade Estadual Paulista – UNESP, Rio Claro, SP, conservados em álcool 70%.

Analisamos adicionalmente 249 espécimes adultos identificados como *Dendropsophus minutus*, reunindo 225 machos e 24 fêmeas depositados nas seguintes coleções:

- Célio F. B. Haddad (CFBH), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP;
- Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas “Adão José Cardoso” (ZUEC), Campinas, SP;
- Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), São Paulo, SP;
- Coleção de Herpetologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG;
- Coleção de Herpetologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS;
- Coleção de Anfíbios da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM;
- Coleção de Herpetologia do Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ), Rio de Janeiro, RJ.

5.2. Análise morfométrica

Mensuramos 12 variáveis definidas por Duellman (2001) e listadas em Watters et al. (2016):

- Comprimento rostro-cloacal (CRC): uma linha direta medindo a distância entre a ponta do focinho até a margem posterior da cloaca.
- Largura da cabeça (LC): medindo a maior largura da cabeça, na região maxilar.

- Comprimento da cabeça (CC): medindo uma linha reta desde o ângulo posterior da mandíbula até a ponta do focinho.
- Comprimento da coxa (CCX): medindo o comprimento desde a abertura cloacal até o joelho.
- Comprimento da tíbia (CT): medindo a distância mais próxima entre a articulação tíbio-femoral até o ponto de articulação tíbio-tarsal no calcanhar.
- Comprimento do antebraço (CAB): medindo o comprimento desde o cotovelo flexionado até a base posterior do tubérculo palmar.
- Distância interorbital (DIO): a menor distância entre as órbitas oculares.
- Diâmetro do olho (DO): medida horizontal da maior distância entre as margens anterior e posterior do olho.
- Distância mais próxima entre olho e tímpano (DOT): medida da margem anterior da área timpânica até a margem posterior do olho.
- Diâmetro do tímpano (DT): medindo a maior largura horizontal entre as margens internas da região timpânica.
- Distância entre olho e narina mais próxima (DON): medindo a distância lateral da margem anterior do olho até a margem posterior da narina.
- Distância internasal (DIN): medindo a menor distância entre as margens das narinas, do alto da cabeça.

As medidas CRC, CC, LC, CCX e CT foram obtidas utilizando paquímetro digital Mitutoyo® 500-144B com precisão 0,01 mm. As demais variáveis foram obtidas através do uso de estereomicroscópio, acoplado com ocular micrométrica nos indivíduos amostrados nas coleções CFBH e UFMG; nas demais coleções foram observadas com uso de estereomicroscópio e medidas com o paquímetro.

Somente machos adultos foram analisados morfometricamente para evitar problemas amostrais provenientes do dimorfismo sexual. Machos foram identificados pela observação de caracteres sexuais secundários, como saco vocal desenvolvido.

Os 255 machos analisados provenientes de localidades brasileiras foram agrupados segundo o domínio fitogeográfico a que pertenciam. Dividimos a região Amazônica, agrupando 19 indivíduos da região norte (margem esquerda) do rio Amazonas (AM1) e outro grupo com 28 espécimes provenientes da região Amazônica ao sul (margem direita) do rio Amazonas (AM2) totalizando 47 representantes da região Amazônica; 15 exemplares da região de Caatinga (CA); 41 indivíduos provenientes de Cerrado (CE); 103 da Mata Atlântica (MA), incluindo 16 amostras provenientes da localidade tipo de *Dendropsophus minutus* (Nova Friburgo – RJ) (MALT); e 50 exemplares registrados para o bioma Pampa (PP) (Material Suplementar I).

A identificação dos domínios correspondentes às localidades dos exemplares analisados seguiu informações sobre os biomas, disponíveis no site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Brasil IBGE, 2018), considerando também as coordenadas de localização da coleta

para melhor aproximação de características fitogeográficas no Google Earth Pro©.

Para classificarmos as fitofisionomias de registro de localidade dos espécimes, adaptamos termos de Ab'Saber (2003). Concordando com a definição de “domínio” como um conjunto espacial de grandeza territorial com relevo, vegetação e condições climático-hidrológicas coerentes; na medida em que há dificuldade de definição de paisagens em mosaicos entre os domínios brasileiros, reduzimos para “região Amazônica”, “região de Caatingas” “região de Mata Atlântica”, “região de Cerrado” e “região Pampa” as áreas aqui amostradas. O “domínio dos planaltos das Araucárias” (Ab'Saber, 2003) foi didaticamente classificado em “Mata Atlântica” para trechos do estado do Paraná, para todo o estado de Santa Catarina, e região norte do Rio Grande do Sul; e em “Pampa” para o trecho de “domínio de pradarias mistas”, na porção sul do Rio Grande do Sul.

As medidas obtidas pela morfometria dos 255 espécimes foram submetidas ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov no programa R© versão 3.5.2. (R Core Team, 2018). Como não seguiam padrões de normalidade, foram transformadas em logaritmos e submetidas à Análise de Componentes Principais (PCA) realizada no programa PAST, versão 2.17c (Hammer et al., 2001), para verificarmos possíveis variações ao longo da área de distribuição amostrada. Nesse mesmo programa, realizamos uma MANOVA (Análise de Variância Multivariada) a fim de testar se há diferença significativa na morfometria dos espécimes de diferentes fitofisionomias brasileiras. Consideramos níveis de significância valores de “p” (Valores de Hottelling) abaixo de 0,05,

verificados com a Sequência de Bonferroni como intervalo de confiança. Analisamos divergências morfométricas de acordo com a Distância de Mahalanobis, comparando as distâncias geográficas entre os grupos aqui estabelecidos. Geramos um gráfico de Análise de Variável Canônica também pelo programa PAST, versão 2.17c (Hammer et al., 2001), para observar a dispersão das médias da morfometria dos espécimes agrupados pela fitofisionomia de ocorrência.

5.3. Análise do padrão de coloração

Para estudarmos variação de desenhos dorsais na espécie, analisamos 237 indivíduos machos adultos das coleções acima citadas, sendo 43 espécimes provenientes de localidades características da região Amazônica (19 indivíduos registrados para localidades ao norte (margem esquerda) do rio Amazonas e 24 indivíduos registrados ao sul (margem direita) do rio Amazonas), 11 da Caatinga, 37 do Cerrado, 97 da Mata Atlântica incluindo 16 da localidade tipo (Nova Friburgo, RJ) e 49 da região Pampa.

Para o agrupamento dos espécimes, seguimos a literatura e classificamos os padrões dorsais em formas “minuta”, quando o desenho de manchas dorsais apresentou a forma de uma ampulheta; “bivittata”, quando havia duas listras principais ao longo do dorso (figura 3); e como forma “sem padrão” quando coloração dorsal não permitia a classificação em nenhuma das duas formas anteriores (figura 4). Assim, analisamos 93 indivíduos que possuíam forma “minuta”, 94 indivíduos classificados como “bivittata” e outros 50 representantes do colorido dorsal “sem padrão”.

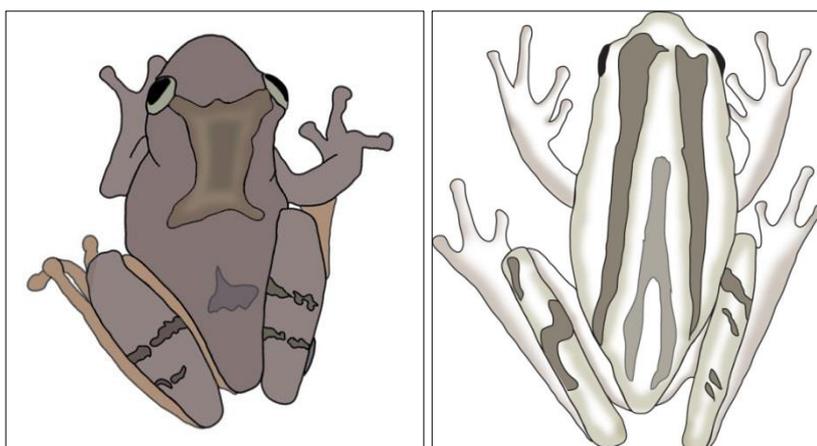


Figura 3. Representação dos padrões de coloração dorsal observados em *Dendropsophus minutus*: forma “minuta” à esquerda (com desenho em formato de ampulheta) e forma “bivittata” à direita (com duas listras dorsais longitudinais).

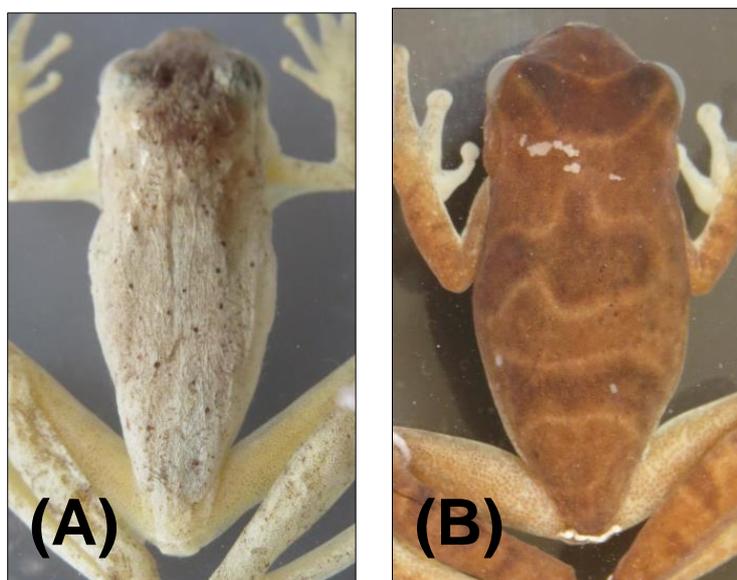


Figura 4. Espécimes exemplificando desenhos dorsais classificados como “sem padrão”. (A) *Dendropsophus minutus* coletado em São Carlos, SP (SH06), com CRC 23,07 mm; (B) *Dendropsophus* aff *minutus* (*D. goughi*) coletado em Manaus, AM (SH54), com CRC 24,12 mm.

Para verificar diferenças morfométricas entre esses padrões de desenho dorsal, excluímos indivíduos caracterizados com coloração dorsal “sem padrão”, visto que poderiam representar formas intermediárias e possivelmente relacionar-se mais à forma “minuta” ou à forma “bivittata”.

Com isso, realizamos uma Análise de Componentes Principais (PCA) no programa PAST, versão 2.17c (Hammer et al., 2001), com as 12 variáveis morfométricas descritas no item acima, comparando 187 indivíduos de *Dendropsophus minutus* divididos pelo desenho dorsal, a fim de analisarmos possíveis padrões de variações entre estes dois padrões de coloração dorsal.

5.4. Análise molecular

Analizamos um fragmento do gene mitocondrial 16S do RNA ribossômico (16S rRNA, 500-650 pb, “primers” 16Sar-L e 16Sbr-H) de espécimes que permitiram estudo molecular conjuntamente com a análise morfológica.

Reunimos tecido muscular de 37 indivíduos adultos de *Dendropsophus minutus* (35 machos e duas fêmeas) coletados. Amostramos 13 espécimes no município de Itatiba, SP (23°03'16,28”S; 46°53'21,94”O), seis do município de Pouso Alegre, MG (22°15'29,42”S; 46°0'50,16”O) e dois da localidade tipo – Nova Friburgo, RJ (22°23'52,53”S; 42°22'02,14”O) representando a Mata Atlântica; quatro espécimes provenientes das coletas no município de Rio Claro, SP (22°17'31,45”S; 47°30'20,72”O) e um de São Carlos, SP (21°55'51,72”S; 47°52'51,72”O) representando o Cerrado; três espécimes coletados em

Manaus, AM (3°06'04,19"S; 59°58'24,24"O) para representar a Amazônia; e oito exemplares do município de Santa Maria, RS (29°38'48,10"S; 53°55'04,33"O), provenientes de localidades características do domínio Pampa.

Adicionamos a estas amostras tecido muscular ou hepático de outros 16 espécimes depositados na coleção CFBH em Rio Claro, SP, utilizados na análise da morfometria, cujos tecidos encontravam-se disponíveis na Coleção de Tecidos Célio F. B. Haddad (CFBHT) em Rio Claro, SP (Material Suplementar I - "Material Examinado").

Seguimos o protocolo de extração de DNA por acetato de amônio (Lyra adaptado de Sambrook et al., 1982) destes 53 tecidos e, com DNA concentrado, amplificamos o fragmento 3' de gene mitocondrial 16S rRNA, com os "primers" 16Sar-L (CGCCTGTTTATCAAAAACAT) e 16Sbr-H (CCGGTCTGAACTCAGATCACGT; Palumbi et al., 2002). Utilizamos um programa de temperaturas com três minutos iniciais em 95°C, seguido de 38 ciclos de 15 segundos a 95°C, 15 segundos a 50°C e 50 segundos a 68°C, seguido de três minutos a 68°C e permanecendo a 12°C após o término. O produto resultante foi purificado usando as enzimas fosfatase (FastAP) e exonuclease I (EXO1) e enviado à Macrogen Inc. (Seul, Coreia do Sul) para sequenciamento unidirecional. As sequências foram editadas pelo programa Geneious® e alinhadas com o programa MEGA7 (Kumar et al., 2015), utilizando o algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004).

Adicionamos essas amostras às sequências genéticas do mesmo fragmento analisadas em Gehara et al. (2014). As amostras utilizadas para "grupo externo" foram selecionadas procurando manter metodologia

similar à do referido trabalho. Enraizamos a árvore pela sequência do fragmento 16S disponível em GenBank (Material suplementar II) de *Xenohyla truncata*, espécie pertencente à subfamília Dendropsophinae. As demais amostras do grupo externo compreenderam sequências utilizadas em Gehara et al. (2014), identificadas como *Dendropsophus* cf. *xapuriensis*, *Dendropsophus* cf. *delarivai* e *Dendropsophus* cf. *stingi*, pertencentes ao grupo de espécies de *Dendropsophus minutus* (Faivovich et al., 2005; Gehara et al., 2014), assim como pelas espécies identificadas como *Dendropsophus* cf. *aperomeus* e *D. goughi*, por problemas de relacionamento com a espécie *D. minutus* ainda não bem estabelecidos na literatura.

Selecionamos o modelo de substituição de nucleotídeos pelo Critério de Informação de Akaike (AIC) através do jModeltest versão 2.1.10 (Darriba et al., 2012), que sugeriu o modelo TIM2 + I + G para a análise Bayesiana.

A reconstrução da árvore filogenética foi realizada por inferência Bayesiana no programa BEAST v. 2.4.8 (Bouckaert et al., 2014), com simulação de Monte Carlo via cadeias de Markov (MCMC). Objetivando manter os parâmetros utilizados no trabalho já publicado sobre a filogeografia da espécie (Gehara et al., 2014), utilizamos a taxa de substituição de $7,35 \times 10^{-3}$ com 100 milhões de gerações e amostrando a cada 10 mil gerações.

Nossas análises foram efetuadas na plataforma computacional disponibilizada em CIPRES (Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research) Science Gateway (Miller et al., 2010). Os resultados foram

analisados quanto à convergência no programa Tracer versão 1.7.1 (Rambaut et al., 2018).

Selecionamos a árvore com máxima credibilidade usando TreeAnnotator v.2.4.8 descartando 25% das primeiras árvores (“burn-in”) e a editamos no FigTree versão 1.4.3, programas provenientes dos pacotes do BEAST 2.4.8 (Bouckaert et al., 2014). Para melhor visualização da árvore resultante, utilizamos o programa CoreIDRAW® Home & Student Suite 2018.

Os resultados foram analisados de acordo com as classificações de linhagens de Gehara et al. (2014). Dessa forma, as amostras foram consideradas pertencentes ao “complexo *D. minutus*” quando se ramificaram próximas às linhagens 19 a 43, e fora do “complexo *D. minutus*” se havia maior proximidade com as linhagens um a 18, seguindo a mesma classificação de linhagens de Gehara et al. (2014).

Avaliamos a distância genética par-a-par entre os grupos e dentro dos grupos, com base em uma matriz de distância- p não-correlacionada (“uncorrelated p -distance”) obtida com as mesmas sequências de fragmento do gene mitocondrial 16S do RNA ribossômico. A matriz foi elaborada com o programa MEGA7 (Kumar et al., 2015), com deleção parcial. Para agrupar os espécimes, colapsamos os ramos das linhagens quando ramificava com alta probabilidade posterior, tanto nas árvores filogenéticas resultantes de nossas análises, quanto na árvore em Gehara et al. (2014). Dessa forma, consideramos 11 agrupamentos de linhagens identificadas da mesma forma que Gehara et al. (2014): G1 agrupando as linhagens 19 a 20; G2 para a linhagem 21; G3 para a linhagem 22; G4 agrupando as linhagens de 23 a 28; G5 para as

linhagens de 29 a 34; G6 para as linhagens 35 e 36; G7 para a linhagem 37; G8 para a linhagem 38; G9 para a linhagem 39; G10 para a linhagem 40; e G11 agrupando as linhagens de 41 a 43 (Material Suplementar III).

6. Resultados

6.1. Variação da morfometria em *Dendropsophus minutus* de diferentes fitofisionomias brasileiras

A morfometria dos espécimes de *D. minutus* aqui analisados (Anexo 1) refletiu o pequeno porte da espécie e apontou diferenças pontuais entre as populações das fitofisionomias comparadas.

Na região Amazônica ao norte do rio Amazonas (AM1), o CRC dos espécimes variou entre 19,51 mm a 24,16 mm (Média = 21,35 mm; DP = 1,38) e cabeças pouco mais longas do que largas, com comprimento entre 6,67 mm a 8,03 mm (Média = 7,26 mm; DP = 0,34) e largura entre 6,37 mm a 7,80 mm (Média = 7,08 mm; DP = 0,46). Os olhos corresponderam a aproximadamente 1/3 do CC, com diâmetro de olho entre 2,35 mm a 2,69 mm (Média = 2,56 mm; DP = 0,85), e distância interorbital entre 3,73 mm e 5,39 mm (Média = 4,65 mm; DP = 0,48). A distância dos olhos até à narina (DON) variou entre 0,90 mm a 1,97 mm (Média = 1,63 mm; DP = 0,22), compreendendo 1/5 do CC, enquanto a distância entre as narinas (DIN) correspondeu a 1/5 da LC, variando entre 1,39 mm a 1,98 mm (Média = 1,61 mm; DP = 0,14). A região timpânica correspondeu a 1/2 do DO e 1/7 do CC, com diâmetro do tímpano entre 0,80 mm e 1,37 mm (Média = 1,03 mm; DP = 0,15); e distância dos olhos aos tímpanos entre 0,64 mm e 1,24 mm (Média = 0,95 mm; DP = 0,19), que correspondeu a aproximadamente 1/8 do CC. O comprimento do antebraço variou entre 3,31 mm e 4,83 mm (Média = 4,03 mm; DP = 0,37), correspondendo a 1/5 do CRC. As tíbias são ligeiramente mais longas do que as coxas, ambas pouco maiores

que a metade do CRC. Comprimentos de coxa variaram entre 10,13 mm a 12,97 mm (Média = 11,57 mm; DP = 0,75), enquanto as tíbias variaram entre 10,99 mm a 13,74 mm (Média = 12,30 mm; DP = 0,66).

A região Amazônica ao sul do rio Amazonas (AM2) apresentou as maiores médias para nove das 12 variáveis mensuradas (CRC, LC, CC, CCX, CT, CAB, DIO, DOT e DON). O CRC dos espécimes variou entre 19,40 mm a 25,27 mm (Média = 22,73 mm; DP = 1,84). As medidas das cabeças evidenciaram cabeças discretamente mais longas do que largas, com comprimento entre 6,37 mm a 8,74 mm (Média = 7,33 mm; DP = 0,54) e largura entre 6,43 mm a 8,40 mm (Média = 7,27 mm; DP = 0,46). O diâmetro do olho variou entre 2,21 mm a 3,42 mm (Média = 2,53 mm; DP = 0,24), correspondendo a aproximadamente 1/3 do CC, e a distância entre os olhos apresentou os maiores valores registrados entre as populações de *D. minutus* aqui comparadas, medindo entre 3,70 mm e 5,89 mm (Média = 4,76 mm; DP = 0,47). A distância dos olhos até à narina (DON) variou entre 1,33 mm a 2,08 mm (Média = 1,66 mm; DP = 0,17), correspondendo a aproximadamente 1/4 da CC, enquanto a distância entre as narinas (DIN) entre 1,21 mm a 2,29 mm (Média = 1,66 mm; DP = 0,28), correspondendo a 1/5 da LC, assim como nos indivíduos medidos na região AM1. Da mesma forma, a região timpânica correspondeu a aproximadamente 1/2 do DO e 1/7 do CC, com diâmetro do tímpano de 0,78 mm a 1,43 mm (Média = 1,12 mm; DP = 0,20). A distância dos olhos aos tímpanos (DOT) correspondeu a aproximadamente 1/8 do CC, com distância variando entre 0,57 mm e 1,63 mm (Média = 0,97 mm; DP = 0,26). O antebraço correspondeu a aproximadamente 1/5 do CRC dos indivíduos, medindo entre 3,18 mm e

5,41 mm (Média = 4,25 mm; DP = 0,49). As tíbias são mais longas do que as coxas, com comprimentos de coxa variando entre 10,24 mm a 13,89 mm (Média = 12,38 mm; DP = 0,97), enquanto as tíbias variaram entre 11,15 mm a 14,61 mm (Média = 13,09 mm; DP = 0,99).

Na Caatinga, os espécimes aqui analisados apresentaram CRC variando entre 19,95 mm a 24,17 mm (Média = 22,07 mm; DP = 1,37) e, contrastando com as diferentes populações analisadas, as cabeças dos espécimes mostraram-se pouco mais largas do que longas, com largura entre 5,98 mm a 7,73 mm (Média = 6,80 mm; DP = 0,52) e comprimento entre 6,12 mm a 7,61 mm (Média = 6,77 mm; DP = 0,43). Os olhos apresentaram diâmetro entre 1,89 mm a 2,66 mm (Média = 2,26 mm; DP = 0,21), correspondendo a $1/3$ do CC, e distância interorbital entre 3,89 mm e 6,18 mm (Média = 4,65 mm; DP = 0,52), compreendendo aproximadamente $1/5$ do CC. Os olhos distanciaram-se das narinas (DON) entre 1,14 mm a 2,04 mm (Média = 1,52 mm; DP = 0,23), e distanciaram-se do tímpano (DOT) por valores entre 0,38 mm a 0,95 mm (Média = 0,72 mm; DP = 0,16). A distância entre as narinas (DIN) dos indivíduos registrados para a Caatinga apresentou o maior valor médio entre as fitofisionomias analisadas, variando entre 1,24 mm a 2,21 mm (Média = 1,67 mm; DP = 0,26), o que correspondeu a $1/4$ da LC, diferentemente da região Amazônica (AM1 e AM2), porém similar às demais fitofisionomias aqui analisadas. Da mesma forma, diferindo das regiões Amazônicas AM1 e AM2, a região timpânica dos indivíduos da Caatinga correspondeu a aproximadamente $1/6$ do CC, apresentando diâmetro do tímpano entre 0,81 mm e 1,71 mm (Média = 1,15 mm; DP = 0,24). A distância entre o olho e o tímpano correspondeu a

aproximadamente 1/9 do CC, medindo entre 0,38 mm a 0,95 mm (Média = 0,72 mm; DP = 0,16). O antebraço mediu entre 2,77 mm a 5,32 mm (Média = 3,72 mm; DP = 0,53), compreendendo aproximadamente 1/6 do CRC, destacando-se das demais regiões analisadas neste trabalho. As tíbias mostraram-se mais longas do que as coxas, com comprimentos variando entre 10,42 mm a 13,24 mm (Média = 11,61 mm; DP = 0,93), enquanto as tíbias apresentaram valores entre 10,79 mm a 14,15 mm (Média = 12,28 mm; DP = 1,01).

Em relação aos indivíduos pertencentes à fitofisionomia Cerrado, o CRC variou entre 18,37 mm a 25,83 mm (Média = 22,32 mm; DP = 1,88). O comprimento da cabeça (CC) resultou entre 5,82 mm a 7,88 mm (Média = 6,77 mm; DP = 0,49) e largura da cabeça entre 5,20 mm a 8,10 mm (Média = 6,60 mm; DP = 0,70). Os olhos corresponderam a aproximadamente 1/3 do CC, com diâmetro de olho entre 1,71 mm a 2,90 mm (Média = 2,28 mm; DP = 0,27), com distância entre os olhos medindo de 3,90 mm a 5,40 mm (Média = 4,60 mm; DP = 0,37). A distância dos olhos até à narina variou entre 1,05 mm a 2,03 mm (Média = 1,48 mm; DP = 0,24), compreendendo aproximadamente 1/5 do CC, enquanto a distância entre as narinas foi de 1,05 mm a 2,15 mm (Média = 1,52 mm; DP = 0,24) correspondendo a 1/4 da LC. A região timpânica resultou em diâmetro do tímpano entre 0,68 mm e 1,62 mm (Média = 1,12 mm; DP = 0,19), compreendendo aproximadamente 1/6 do CC; e distância dos olhos aos tímpanos variando entre 0,48 mm a 0,97 mm (Média = 0,72 mm; DP = 0,13), o que representou aproximadamente 1/9 do CC. O antebraço apresentou comprimento entre 2,94 mm a 4,85 mm (Média = 3,86 mm; DP = 0,45), correspondendo a

1/5 do CRC. Mais longas do que as coxas, as tíbias variaram entre 10,41 mm a 15,17 mm (Média = 12,55 mm; DP = 1,00), enquanto comprimentos de coxa variaram entre 9,34 mm a 14,05 mm (Média = 11,86 mm; DP = 1,11).

Na região de Mata Atlântica, o CRC dos espécimes analisados resultou entre 18,21 mm a 24,17 mm (Média = 20,86 mm; DP = 1,37) e cabeças também pouco mais longas do que largas, com comprimento entre 5,66 mm a 7,72 mm (Média = 6,56 mm; DP = 0,43) e largura entre 5,29 mm a 7,54 mm (Média = 6,34 mm; DP = 0,46). Os olhos proeminentes corresponderam a aproximadamente 1/3 do CC, com diâmetro ocular entre 1,24 mm a 2,69 mm (Média = 2,23 mm; DP = 0,21), enquanto a distância interorbital variou entre 3,58 mm e 5,32 mm (Média = 4,46 mm; DP = 0,39). Espécimes da Mata Atlântica apresentaram distância dos olhos até à narina (DON) variando entre 0,76 mm a 2,07 mm (Média = 1,48 mm; DP = 0,22), compreendendo a aproximadamente 1/4 a 1/5 do CC, enquanto a distância entre as narinas compreendeu 1/4 da LC, variando entre 0,95 mm a 2,00 mm (Média = 1,49 mm; DP = 0,22). O diâmetro do tímpano correspondeu a 1/6 do CC e a 1/3 do DO, diferentemente das demais fitofisionomias estudadas, variando entre 0,57 mm e 1,37 mm (Média = 0,97 mm; DP = 0,15). A distância dos olhos aos tímpanos compreendeu 1/9 do CC, medindo entre 0,32 mm e 1,20 mm (Média = 0,73 mm; DP = 0,16). O antebraço de *D. minutus* da Mata Atlântica compreendeu 1/5 do CRC, medindo entre 2,57 mm e 4,82 mm (Média = 3,81 mm; DP = 0,40). As tíbias resultaram em valores ligeiramente maiores que as coxas, cujo comprimento de tíbia variou entre 9,76 mm a 13,81 mm (Média = 11,65 mm; DP = 0,91),

enquanto comprimentos de coxa variaram entre 8,21 mm a 13,20 mm (Média = 11,00 mm; DP = 0,88).

Na região de Pampa, os espécimes analisados apresentaram CRC entre 18,88 mm a 23,85 mm (Média = 21,22 mm; DP = 1,23), assim como cabeças pouco mais longas do que largas, com comprimento entre 5,84 mm a 7,42 mm (Média = 6,59 mm; DP = 0,33) e largura medindo entre 5,15 mm a 7,16 mm (Média = 6,02 mm; DP = 0,40). Com isso, esta fitofisionomia apresentou os menores valores de largura de cabeça entre os indivíduos analisados neste trabalho. Os olhos apresentaram diâmetro entre 1,84 mm a 2,61 mm (Média = 2,07 mm; DP = 0,17), e distância entre os olhos entre 3,39 mm e 5,24 mm (Média = 4,34 mm; DP = 0,43). A distância dos olhos até à narina representou aproximadamente 1/4 do CC, medindo entre 1,21 mm a 1,86 mm (Média = 1,59 mm; DP = 0,14), enquanto a distância entre as narinas variou entre 1,22 mm a 1,87 mm (Média = 1,59 mm; DP = 0,15), compreendendo 1/4 da LC. A região timpânica correspondeu a aproximadamente 1/6 do CC e 1/2 do DO, com diâmetro timpânico entre 0,57 mm e 1,50 mm (Média = 1,02 mm; DP = 0,16). Diferentemente das demais populações analisadas, a distância dos olhos aos tímpanos compreendeu 1/10 do CC, variando entre 0,42 mm e 0,98 mm (Média = 0,68 mm; DP = 0,12). O antebraço mediu entre 2,76 mm e 4,68 mm (Média = 3,62 mm; DP = 0,39), correspondendo a 1/5 do CRC. As tíbias são discretamente mais longas do que as coxas, onde comprimentos de coxa variaram entre 9,54 mm a 12,67 mm (Média = 11,15 mm; DP = 0,70), enquanto as tíbias variaram entre 10,50 mm a 13,33 mm (Média = 11,91 mm; DP = 0,65).

Não houve diferenciação entre as populações de *D. minutus* das diferentes fitofisionomias. Na análise de componentes principais (figura 5), os dois primeiros eixos explicaram 89,13% da variação encontrada no conjunto de dados morfométricos, sendo que 73,78% da variação é explicada pelo eixo componente um, enquanto o eixo componente dois representa 15,35% da variação (Anexo 2).

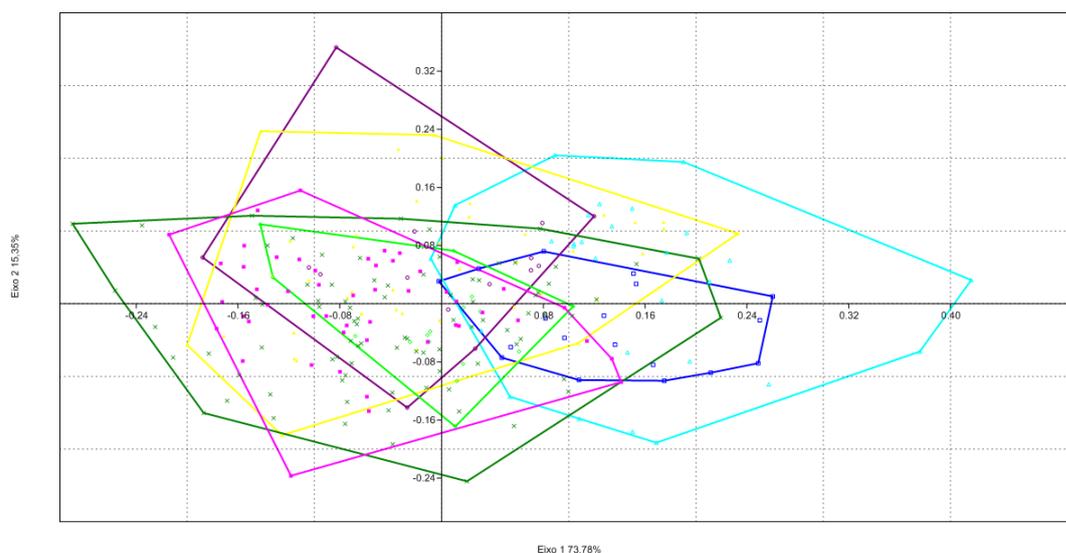


Figura 5. Análise de Componentes Principais (PCA) com a morfometria de *Dendropsophus minutus* diferenciada por domínios fitogeográficos. Cor azul escura: Indivíduos da região Amazônica ao norte do rio Amazonas; cor azul clara: região Amazônica ao sul do rio Amazonas; cor roxa: indivíduos da região da Caatinga; cor amarela: indivíduos da região de Cerrado; cor verde escura: indivíduos da região de Mata Atlântica; cor verde clara: indivíduos da localidade tipo da espécie (Nova Friburgo, RJ); cor rosa: indivíduos da região de Pampa.

Assim como na PCA, na Análise de Variação Canônica (figura 6) não observamos agrupamentos que representem diferenciações morfométricas entre as populações de *D. minutus* no Brasil, agrupadas de acordo com os domínios fitogeográficos.

Contudo, a Análise de Variância Multivariada (MANOVA) resultou em valores significativos para “p” ($p = 3,155^{-37}$ para λ de Wilks; $p = 2,218^{-30}$ “*Pillai trace*”). Em relação aos valores de Hotelling com intervalo de confiança (sequência Bonferroni de significância) (tabela 1), encontramos diferenças significativas ($p < 0,05$) principalmente entre as populações da Mata Atlântica (MA) e Pampa (PP), que diferiram significativamente das demais regiões analisadas. As similaridades encontradas entre a população da Caatinga (CA) com as populações de Cerrado (CE) e da localidade tipo de *D. minutus* (MALT) podem refletir o baixo número de indivíduos analisados registrados para ambientes de Caatinga ($n=15$).

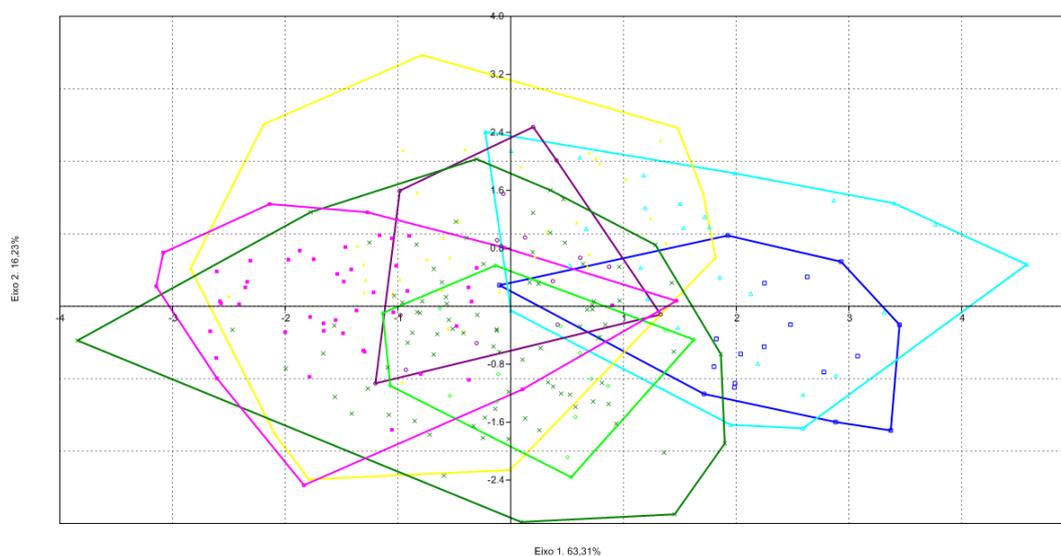


Figura 6. Análise de Variação Canônica (CVA) com a morfometria de *Dendropsophus minutus* diferenciada por domínios fitogeográficos. Cor azul escura: Indivíduos da região Amazônica ao norte do rio Amazonas; cor azul clara: região Amazônica ao sul do rio Amazonas; cor roxa: indivíduos da região da Caatinga; cor amarela: indivíduos da região de Cerrado; cor verde escura: indivíduos da região de Mata Atlântica; cor verde clara: indivíduos da localidade tipo da espécie (Nova Friburgo, RJ); cor rosa: indivíduos da região de Pampa.

Tabela 1. Valores de Hottelling (p) comparando valores morfométricos de populações de *Dendropsophus minutus* de diferentes fitofisionomias: região Amazônica ao norte do rio Amazonas (AM1); região Amazônica ao sul do rio Amazonas (AM2); região de Caatinga (CA); região de Cerrado (CE); região de Mata Atlântica (MA); localidade tipo da espécie – Nova Friburgo, RJ (LT); região de Pampa (PP). Valores significativos ($p < 0,05$) destacados em vermelho.

| | AM2 | CA | CE | MA | MALT | PP |
|------|-------|-------|---------------------|----------------------|-------|----------------------|
| AM1 | 0,326 | 0,006 | 1,307 ⁻⁷ | 2,546 ⁻⁹ | 0,025 | 3,053 ⁻¹² |
| AM2 | | 0,004 | 1,266 ⁻⁶ | 2,828 ⁻¹¹ | 0,001 | 7,696 ⁻¹⁴ |
| CA | | | 0,285 | 0,007 | 0,274 | 0,0008 |
| CE | | | | 0,0001 | 0,001 | 2,217 ⁻⁶ |
| MA | | | | | 0,021 | 1,720 ⁻¹⁰ |
| MALT | | | | | | 0,0002 |

Quanto à distância de Mahalanobis (Squared Mahalanobis distances) das populações de *D. minutus* classificadas pelo domínio fitogeográfico, os valores resultantes encontram-se disponíveis na tabela 2. As maiores distâncias resultaram na comparação entre as populações da região Amazônica com a população da região de Pampa. As populações da Caatinga e do Cerrado também se distanciaram da população Amazônica ao norte (margem esquerda) do rio Amazonas.

Tabela 2. Distâncias de Mahalanobis comparando distâncias morfométricas das populações de *Dendropsophus minutus* de diferentes fitofisionomias: região Amazônica ao norte do rio Amazonas (AM1); região Amazônica ao sul do rio Amazonas (AM2); região de Caatinga (CA); região de Cerrado (CE); região de Mata Atlântica (MA); localidade tipo da espécie – Nova Friburgo, RJ (LT); região de Pampa (PP).

| | AM2 | CA | CE | MA | MALT | PP |
|-------------|------------|-----------|-----------|-----------|-------------|-----------|
| AM1 | 1,745 | 7,958 | 9,218 | 6,645 | 5,688 | 14,433 |
| AM2 | | 5,414 | 5,204 | 5,503 | 5,870 | 11,035 |
| CA | | | 1,709 | 2,596 | 3,369 | 4,390 |
| CE | | | | 1,726 | 4,494 | 3,182 |
| MA | | | | | 2,134 | 3,154 |
| MALT | | | | | | 4,772 |

6.2. Sobre o padrão dorsal: forma “minuta”, forma “bivittata” e exemplares sem padrão de coloração

A morfometria dos espécimes de *Dendropsophus minutus* classificados com padrão dorsal da forma “minuta” resultou em CRC variando entre 18,41 mm a 25,83 mm (Média = 21,46 mm; DP = 1,83). O comprimento da cabeça apresentou medidas entre 5,78 mm a 8,03 mm (Média = 6,87 mm; DP = 0,51) enquanto a largura variou entre 5,29 mm a 8,16 mm (Média = 6,69 mm; DP = 0,62), caracterizando cabeças ligeiramente mais longas que largas. Os olhos apresentaram diâmetro entre 1,71 mm a 2,90 mm (Média = 2,33 mm; DP = 0,24), e distância entre os olhos entre 3,61 mm e 5,48 mm (Média = 4,60 mm; DP = 0,42). A distância dos olhos até à narina mediu entre 0,90 mm a 2,08 mm (Média = 1,53 mm; DP = 0,23), enquanto a distância entre as narinas foi de 1,12 mm a 2,29 mm (Média = 1,58 mm; DP = 0,23). A medida de diâmetro do tímpano variou entre 0,57 mm e 1,52 mm (Média = 1,05 mm; DP = 0,18), enquanto apresentou a distância dos olhos aos tímpanos variando entre 0,48 mm e 1,55 mm (Média = 0,83 mm; DP = 0,18). O comprimento do antebraço variou entre 2,77 mm e 5,03 mm (Média = 3,84 mm; DP = 0,40). Comprimentos de coxa variaram entre 8,21 mm a 13,83 mm (Média = 11,51 mm; DP = 1,12), enquanto as tíbias variaram entre 9,76 mm a 14,07 mm (Média = 12,16 mm; DP = 1,11).

Em relação aos espécimes de *Dendropsophus minutus* classificados com padrão dorsal da forma “bivittata”, o CRC variou entre 18,54 mm a 23,85 mm (Média = 21,31 mm; DP=1,26). O comprimento da cabeça variou entre 5,72 mm a 7,61 mm (Média = 6,62 mm; DP = 0,37) e largura entre 5,15 mm a 7,40 mm (Média = 6,20 mm; DP = 0,46),

evidenciando cabeças ligeiramente mais longas que largas. Os olhos apresentaram diâmetro entre 1,24 mm a 2,69 mm (Média = 2,15 mm; DP = 0,22), e distância entre os olhos variou entre 3,39 mm e 5,24 mm (Média = 4,43 mm; DP = 0,39). A distância dos olhos até à narina mediu entre 0,86 mm a 1,97 mm (Média = 1,56 mm; DP=0,17), enquanto a distância entre as narinas foi de 1,05 mm a 2,21 mm (Média = 1,55 mm; DP = 0,18). O diâmetro timpânico variou entre 0,57 mm e 1,50 mm (Média = 1,02 mm; DP = 0,14), enquanto os olhos distanciaram-se da região timpânica de 0,32 mm a 0,98 mm (Média = 0,68 mm; DP = 0,13). O antebraço apresentou comprimento entre 2,76 mm e 4,85 mm (Média = 3,71 mm; DP = 0,39). Comprimentos de coxa variaram entre 9,54 mm a 13,24 mm (Média = 11,19 mm; DP = 0,73), enquanto as tíbias variaram entre 10,16 mm a 13,85 mm (Média = 11,88 mm; DP = 0,73).

Em relação à morfometria dos espécimes classificados com desenho dorsal do tipo “sem padrão”, os valores resultantes foram semelhantes à morfometria dos indivíduos que foram classificado de acordo com o desenho formado. O CRC dos espécimes “sem padrão” variou entre 18,21 mm a 25,25 mm (Média = 21,54 mm; DP = 1,81). O comprimento da cabeça foi ligeiramente maior que a largura, variando entre 5,66 mm a 8,74 mm (Média = 6,85 mm; DP = 0,63) enquanto a largura das cabeças variou entre 5,20 mm a 8,40 mm (Média = 6,69 mm; DP =0,71). Os olhos apresentaram diâmetro entre 1,92 mm a 3,42 mm (Média = 2,36 mm; DP = 0,27), e distância entre os olhos variando entre 3,58 mm e 5,89 mm (Média = 4,57 mm; DP = 0,46). A distância dos olhos até à narina mediu entre 0,76 mm a 1,97 mm (Média = 1,53 mm; DP = 0,25), enquanto a distância internasal foi de 0,95 mm a 1,98 mm

(Média = 1,53 mm; DP = 0,21). A medida de diâmetro do tímpano variou entre 0,68 mm e 1,43 mm (Média = 1,02 mm; DP = 0,18), enquanto a distância dos olhos aos tímpanos variou entre 0,49 mm e 1,63 mm (Média = 0,84 mm; DP = 0,20). O comprimento do antebraço mediu entre 2,57 mm e 5,41 mm (Média = 3,99 mm; DP = 0,52). As coxas variaram entre 9,34 mm a 14,05 mm (Média = 11,39 mm; DP = 1,17), enquanto as tíbias, ligeiramente mais longas do que as coxas, variaram entre 9,84 mm a 15,17 mm (Média = 12,10 mm; DP = 1,15).

Quando comparamos a morfometria dos 237 espécimes classificados em forma “minuta”, forma “bivittata” e “sem padrão” através de uma Análise de Componentes Principais (figura 7) não há diferenciações significativas entre estes dois padrões. Seleccionamos os dois primeiros valores de componentes principais (PC), plotando a análise com as 12 variáveis mensuradas nos espécimes, separados pelo desenho dorsal. O eixo componente um explica 37,05% e o eixo componente dois representa 21,88% das variações (Anexo 3).

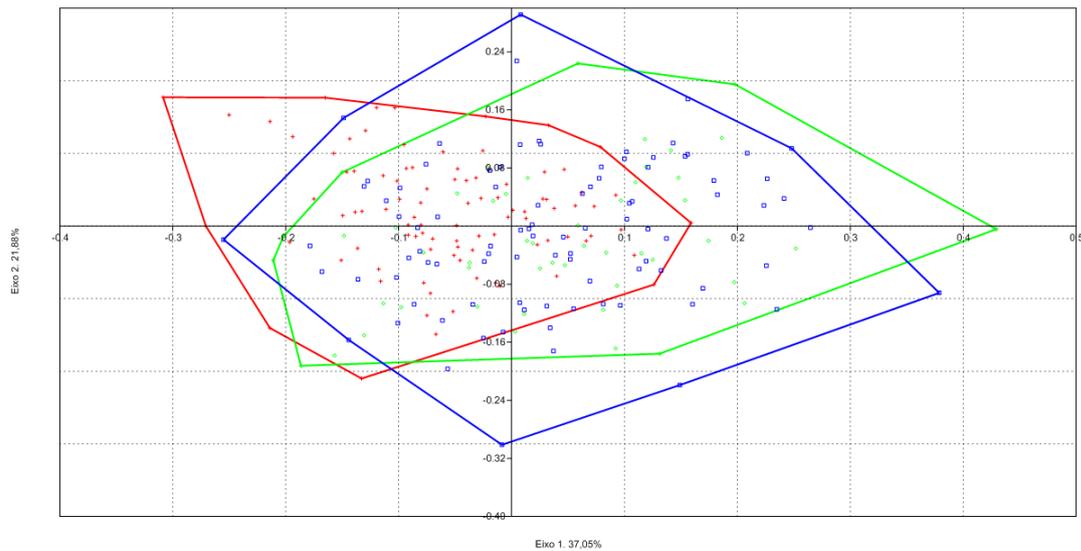


Figura 7. Análise de componentes principais (PCA) com a morfometria dos espécimes identificados como *Dendropsophus minutus* classificados pelo padrão de colorido dorsal: forma “minuta” (em azul), forma “bivittata” (em vermelho) e “sem padrão” (em verde).

A Análise de Componentes Principais (PCA) realizada apenas com os espécimes classificados em forma “minuta” e forma “bivittata” (figura 8), excluindo os indivíduos classificados como “sem padrão”, também não resultou em diferenças significativas. Seleccionamos os dois primeiros valores de componentes principais (PC), plotando a análise com as 12 variáveis mensuradas nos espécimes. O eixo componente um representa 36,40% e o eixo componente dois explica 22,33% das variações (Anexo 4).

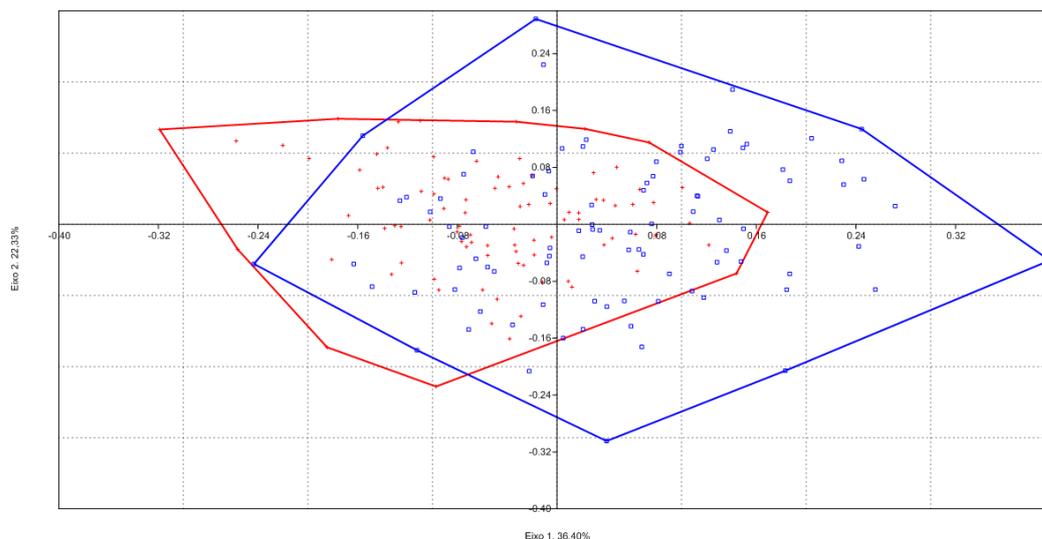


Figura 8. Análise de componentes principais (PCA) com a morfometria dos espécimes identificados como *Dendropsophus minutus* classificados pelo padrão de colorido dorsal: forma “minuta” (em azul) e forma “bivittata” (em vermelho).

Apesar da alta variabilidade do colorido dorsal cuja diferenciação morfométrica não é observada, podemos destacar a ausência de determinados padrões em algumas regiões do Brasil (figura 9).

Na região Amazônica, aqui subdividida em norte e sul do rio Amazonas, registramos espécimes com padrão dorsal da forma “minuta” e “sem padrão”, destacando a ausência do padrão de desenho dorsal da forma “bivittata” nestas regiões. Na Caatinga, mais da metade dos espécimes analisados apresentaram padrão “bivittata” enquanto os demais apresentaram padrão “minuta”. O Cerrado e a Mata Atlântica registraram as três classificações de desenho dorsal da espécie. Já na região de Pampa quase todos os indivíduos amostrados apresentaram padrão dorsal do tipo “bivittata”, enquanto apenas um exemplar foi classificado como “sem padrão” (UFSM 11877, de Tavares, RS).

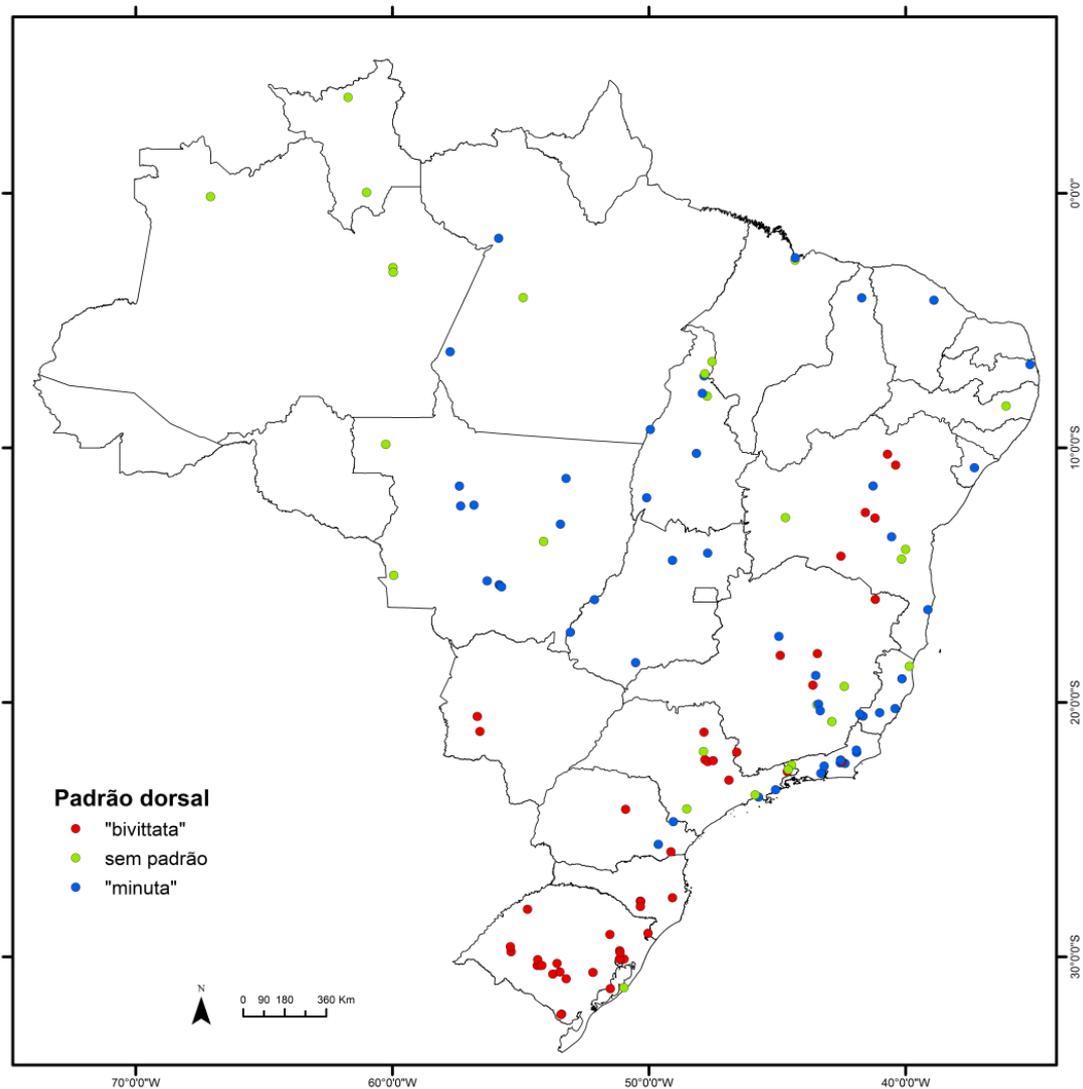


Figura 9. Mapa de distribuição de *Dendropsophus minutus* analisados, classificados pelo padrão de colorido dorsal. Em azul, indivíduos que possuem forma “minuta”, com desenho dorsal em formato de ampulheta. Em vermelho, indivíduos que possuem forma “bivittata”, com duas listras longitudinais no dorso. Em verde, espécimes que foram classificados como “sem padrão” de desenho dorsal.

6.3. Filogenia de *Dendropsophus minutus*

A árvore filogenética de *Dendropsophus minutus* aqui gerada com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana (figuras 10A, 10B, 10C e 10D) foi resultante do consenso de maioria das árvores filogenéticas geradas. Com diferenças pouco expressivas, evidenciou similaridades à árvore filogenética da espécie apresentada em Gehara et al. (2014). Apresentamos as probabilidades posteriores dos nós nas figuras correspondentes à árvore filogenética.

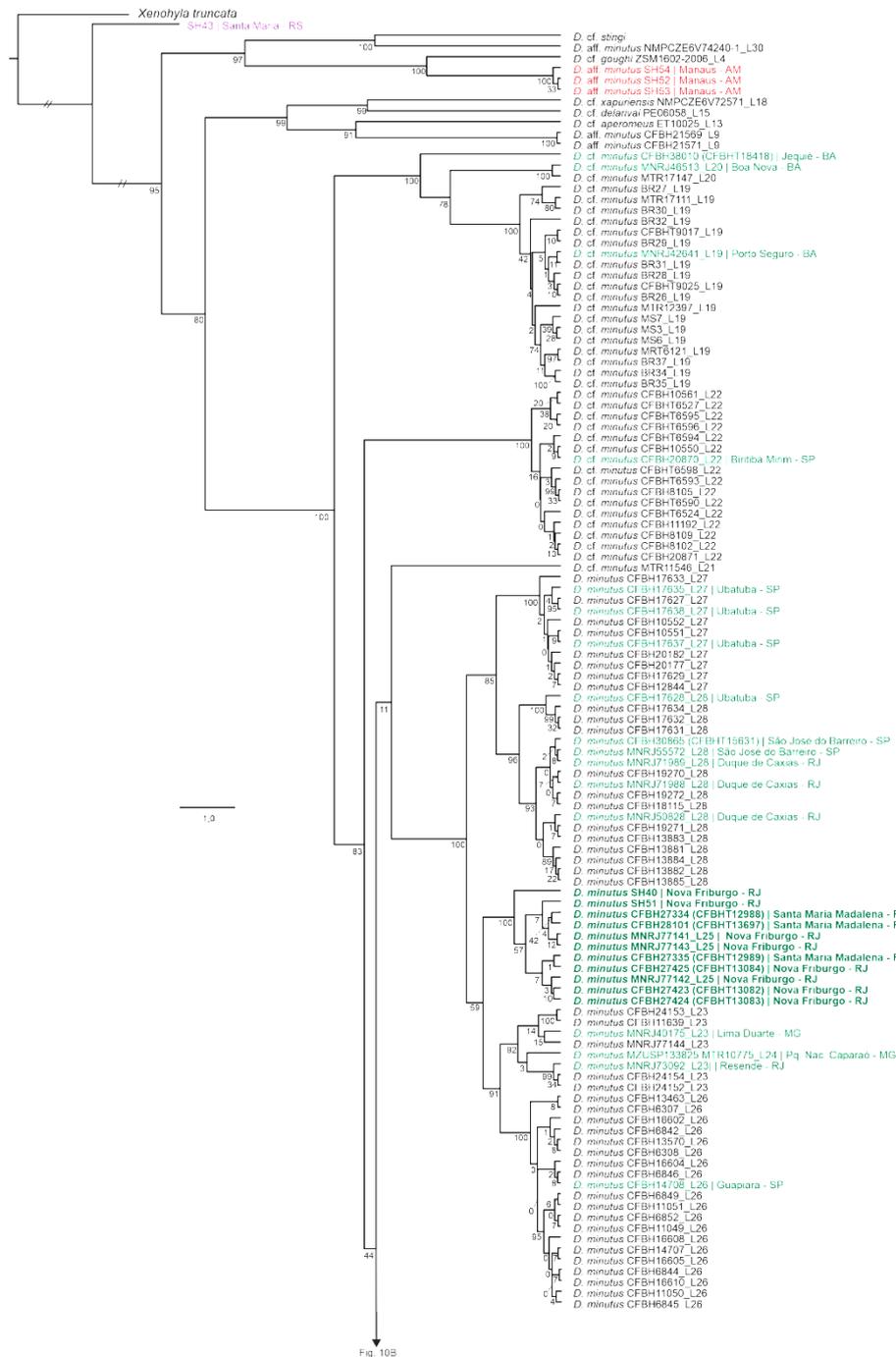


Figura 10A. Árvore filogenética dos espécimes de *Dendropsophus minutus* com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Ramos com o símbolo “//” foram horizontalmente encurtados e não seguem a escala. Terminais em preto: sequências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014), com números da linhagem correspondente (fora do complexo *D. minutus* – linhagens de 1 a 18; complexo *D. minutus* – linhagens 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 e 28). Terminais coloridos correspondem a espécimes com morfologia analisada, registrados para as regiões: Amazônia (vermelho), Caatinga (verde claro) e Mata Atlântica (verde escuro). Terminais verde escuro negrito são amostras provenientes da localidade tipo de *Dendropsophus minutus* (município de Nova Friburgo, estado Rio de Janeiro).

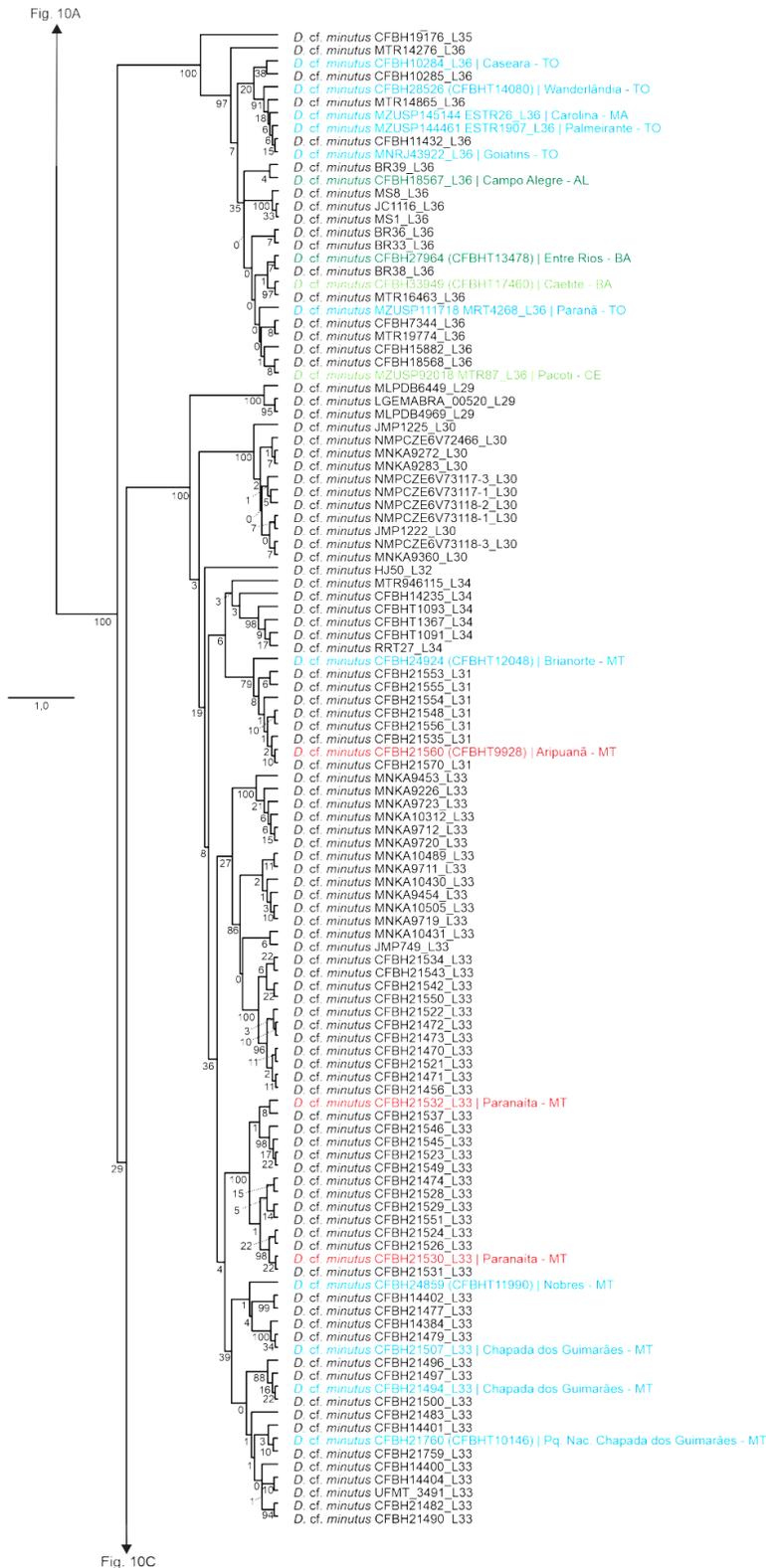


Figura 10B. Árvore filogenética dos espécimes de *Dendropsophus minutus* com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Terminais em preto: seqüências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014), com números da linhagem correspondente (complexo *D. minutus* – linhagens 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 e 36). Terminais coloridos correspondem a espécimes com morfologia analisada, registrados para as regiões: Amazônia (em vermelho), Caatinga (em verde claro), Cerrado (em azul) e Mata Atlântica (em verde escuro).

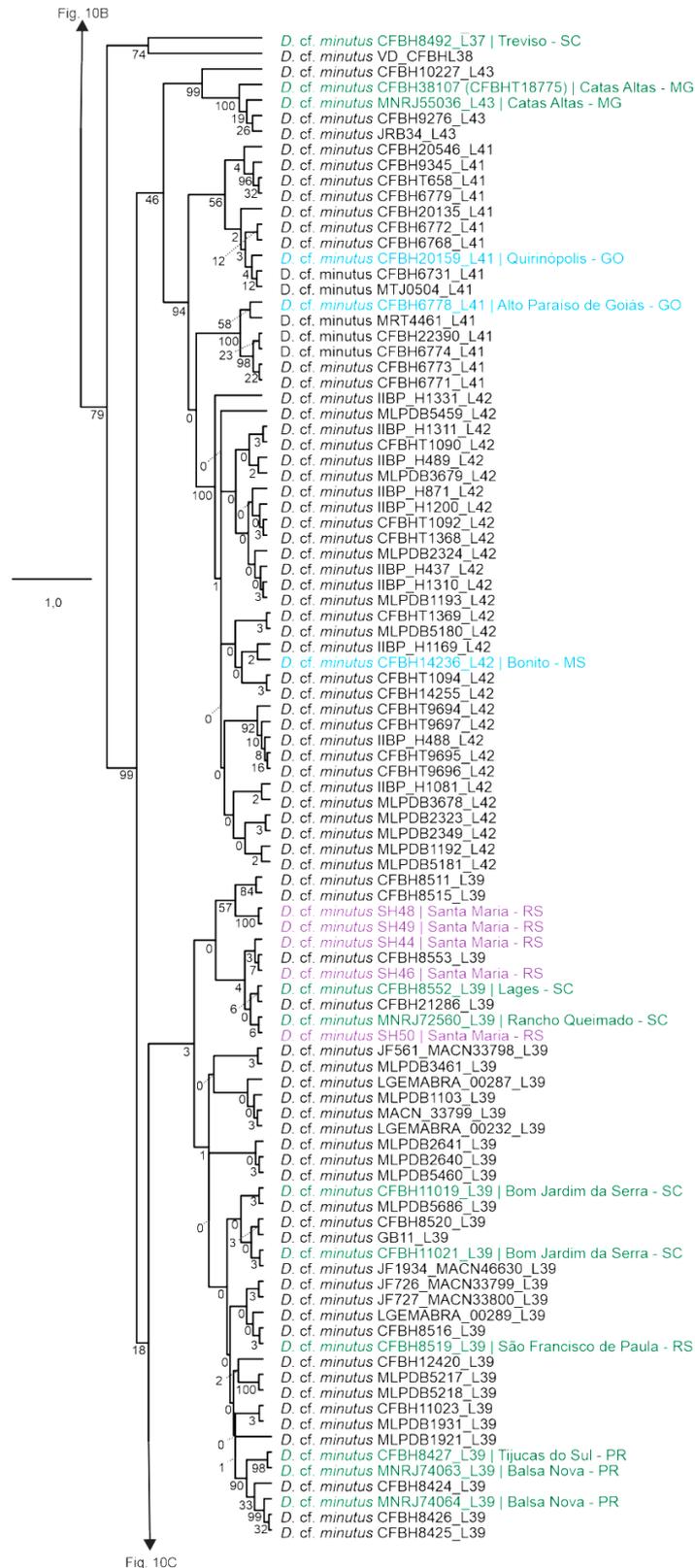


Figura 10C. Árvore filogenética dos espécimes de *Dendropsophus minutus* com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Terminais em preto: seqüências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014), com números da linhagem correspondente (complexo *D. minutus* – linhagens 37, 38, 39, 41, 42 e 43). Terminais coloridos correspondem a espécimes com morfologia analisada, registrados para as regiões: Cerrado (em azul), Mata Atlântica (em verde escuro) e Pampa (roxo).

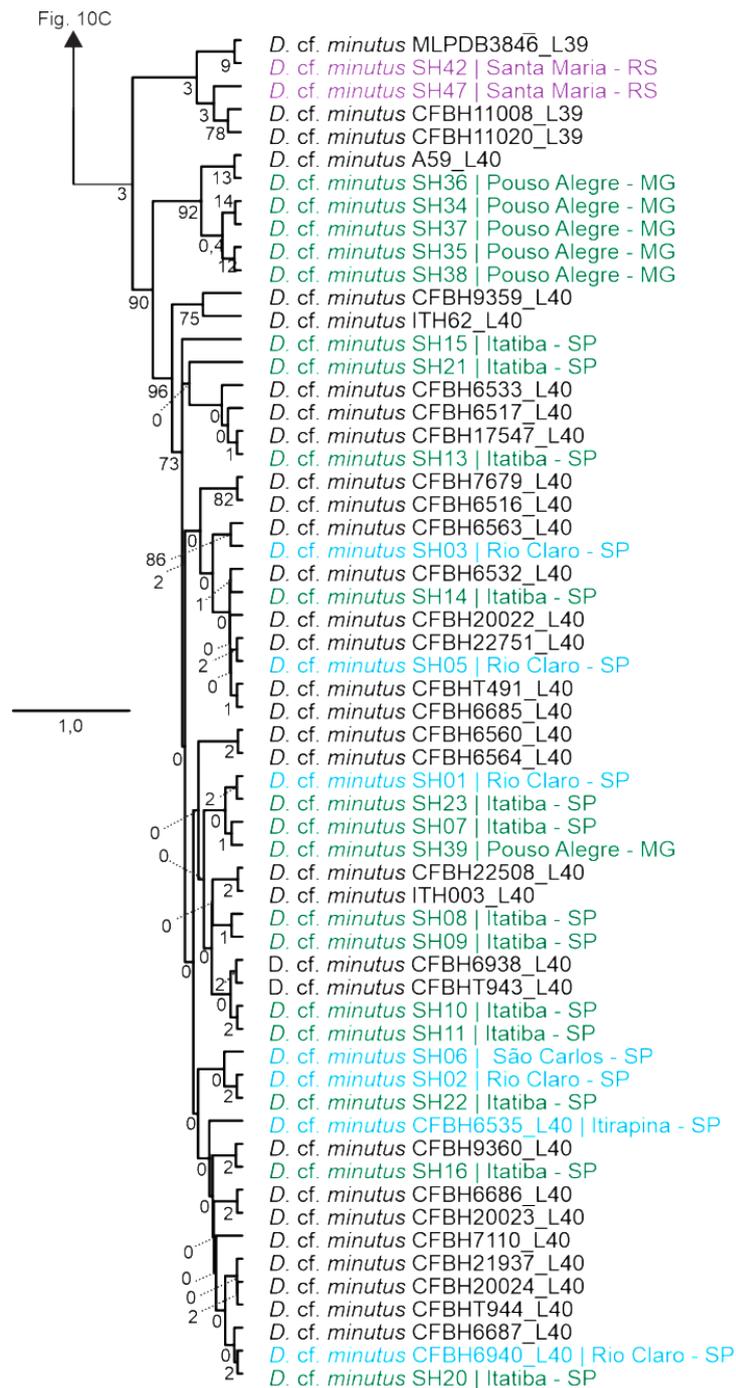


Figura 10D. Árvore filogenética dos espécimes com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Terminais em preto: sequências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014), com números da linhagem correspondente (complexo *D. minutus* – linhagens 39 e 40). Terminais coloridos correspondem a espécimes com morfologia analisada, registrados para as regiões: Cerrado (azul), Mata Atlântica (verde escuro) e Pampa (roxo).

Em relação às diferenças com a árvore filogenética disponível em Gehara et al. (2014), adicionamos ramos nas linhagens 19, 20, 25, 28, 31, 33, 36, 39, 40 e 43.

Amostras provenientes de coletas em campo na localidade tipo de *Dendropsophus minutus*, Nova Friburgo, RJ (SH40 e SH51), ramificaram-se junto às amostras correspondentes à linhagem 25. As amostras de tecido de espécimes topótipos depositadas na coleção CFBHT resultaram como pertencentes à mesma linhagem da localidade tipo (CFBHT13082; CFBH27423; CFBHT13083; CFBH27424; CFBHT13084; CFBH27425), bem como as amostras do município de Santa Maria Madalena, RJ, distante aproximadamente 70 km de Nova Friburgo, RJ (CFBHT12988; CFBH 27334; CFBHT12989; CFBH27335; CFBHT13697; CFBH28101). Todos esses espécimes apresentaram padrão de coloração dorsal da forma “minuta”.

Apesar de não observarmos diferenças significativas na morfometria, os três indivíduos provenientes de Manaus, AM (SH52, SH53 e SH54), mostraram-se fortemente relacionados (100% de probabilidade posterior) com as amostras moleculares de *Dendropsophus goughi* proveniente da ilha de Tobago, em Trinidad e Tobago. Conseqüentemente, alocaram-se relativamente distantes do chamado “complexo *minutus*” e topótipos de *D. minutus*.

A linhagem 31 foi expandida ao Sul de sua ocorrência, até Brianorte, Mato Grosso (MT), ocorrendo em região Amazônica e de Cerrado. A linhagem 36 foi registrada ao Norte de Tocantins, em Wanderlândia; ao Norte da Bahia (BA), em Entre Rios, e inserimos mais um ponto de registro em Caetité, BA. A área de ocorrência da linhagem

39 foi ampliada em direção ao Sul do Brasil, até Santa Maria, RS, em região de Pampa. Já a área de distribuição da linhagem 40 teve seu limite Leste expandido no estado de São Paulo, em Itatiba, e no estado de Minas Gerais, em Pouso Alegre.

Adicionalmente, agrupamos linhagens que compreendiam espécimes correspondentes ao “complexo *D. minutus*” de acordo com similaridades na ramificação. Assim, dividimos as linhagens em grupos G1 com linhagens 19 e 20 agrupadas com 100% de probabilidade posterior; G2 com a amostra única da linhagem 21; G3 com a linhagem 22 ramificada com 100% de probabilidade posterior; G4 que incorpora as linhagens de 23 a 28 com 100% de probabilidade posterior, incluindo neste grupo a linhagem pertencente à localidade tipo de *D. minutus* (Nova Friburgo, RJ); G5 com as linhagens de 29 a 34 e 96% de probabilidade posterior; G6 com as linhagens 35 e 36 agrupadas com 100% de probabilidade; G7 com a única amostra da linhagem 37; G8 representado pelo único indivíduo da linhagem 38; G9 com as amostras da linhagem 39 agrupadas em Gehara et al. (2014) com alta probabilidade, mas dividida em dois grupos com baixa probabilidade em nossos resultados; G10 com a linhagem 40 agrupada com baixa probabilidade; e G11 incorporando as linhagens 41 a 43 com 89% de probabilidade posterior (figura 11).

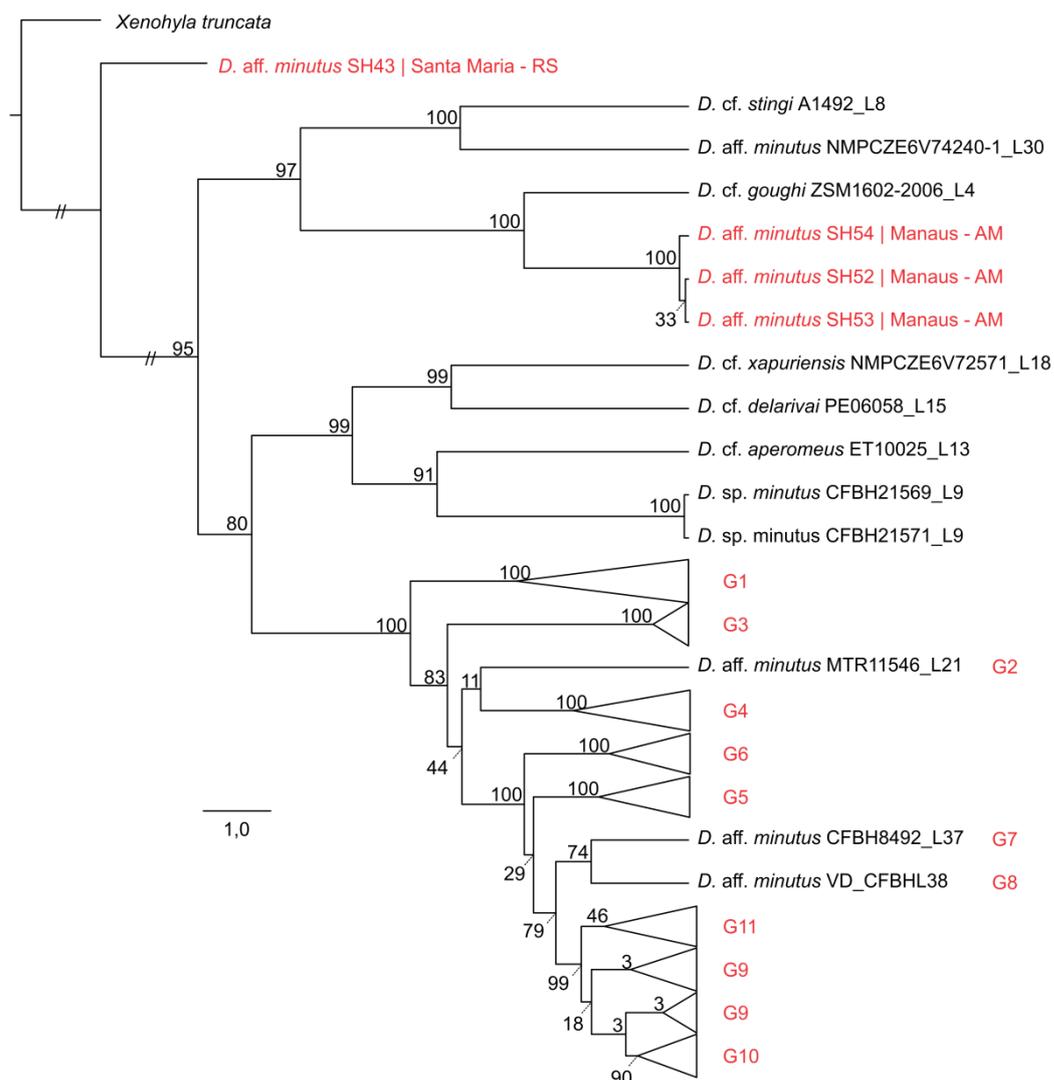


Figura 11. Árvore filogenética dos espécimes de *Dendropsophus minutus* com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e inferência Bayesiana. Ramos com o símbolo "//" foram horizontalmente encurtados e não seguem a escala. Sequências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014) adicionadas às sequências analisadas no presente trabalho. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Ramos colapsados representam os agrupamentos de linhagens: G1 (linhagens 19 a 20); G2 (linhagem 21); G3 (linhagem 22); G4 (linhagens de 23 a 28); G5 (linhagens de 29 a 34); G6 (linhagens 35 e 36); G7 (linhagem 37); G8 (linhagem 38); G9 (linhagem 39); G10 (linhagem 40); e G11 (linhagens de 41 a 43).

A matriz de distância (Tabela 3) realizada para observarmos variações entre os grupos de linhagens aqui estabelecidos exibiu variações entre 1% até 7%.

Tabela 3. Matriz de distância genética entre grupos de linhagens de *Dendropsophus minutus* aqui analisados. G1 (linhagens 19 a 20), G2 (linhagem 21), G3 (linhagem 22), G4 (linhagens de 23 a 28), G5 (linhagens de 29 a 34), G6 (linhagens 35 e 36), G7 (linhagem 37), G8 (linhagem 38), G9 (linhagem 39), G10 (linhagem 40), e G11 (linhagens de 41 a 43). Valores na diagonal em cinza correspondem às médias dos valores das distâncias intragrupos. O símbolo “-” corresponde a grupos formados por amostra única.

| | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 | G8 | G9 | G10 | G11 |
|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| G1 | 0,014 | | | | | | | | | | |
| G2 | 0,059 | - | | | | | | | | | |
| G3 | 0,068 | 0,062 | 0,002 | | | | | | | | |
| G4 | 0,061 | 0,044 | 0,053 | 0,015 | | | | | | | |
| G5 | 0,073 | 0,048 | 0,062 | 0,051 | 0,013 | | | | | | |
| G6 | 0,067 | 0,047 | 0,058 | 0,045 | 0,035 | 0,005 | | | | | |
| G7 | 0,067 | 0,046 | 0,062 | 0,050 | 0,033 | 0,036 | - | | | | |
| G8 | 0,061 | 0,042 | 0,058 | 0,048 | 0,032 | 0,028 | 0,024 | - | | | |
| G9 | 0,062 | 0,043 | 0,061 | 0,044 | 0,036 | 0,030 | 0,028 | 0,019 | 0,003 | | |
| G10 | 0,071 | 0,050 | 0,064 | 0,047 | 0,044 | 0,030 | 0,037 | 0,028 | 0,017 | 0,003 | |
| G11 | 0,072 | 0,048 | 0,066 | 0,048 | 0,044 | 0,033 | 0,035 | 0,027 | 0,015 | 0,020 | 0,009 |

As maiores distâncias foram registradas para o grupo G1, formado pelo agrupamento das linhagens 19 e 20, que distanciou-se 5% em relação ao grupo G2, que agrupa a linhagem 21, enquanto apresentou variação de 6% a 7% em relação às outras linhagens. O grupo G3, que abriga a linhagem 22, distanciou-se de 5% a 6% em relação aos outros grupos. O grupo G4, que agrupa as linhagens de 23 a 28, incluindo topótipos da espécie, variou 5% em relação aos grupos G3, G5 e G7; enquanto variou 6% em relação a G1. Os agrupamentos G9, G10 e G11 exibiram distâncias de 6% a 7% dos grupos G1 (linhagens 19 e 20) e G3 (linhagem 22).

Entre os outros grupos, as menores distâncias foram registradas para o grupo G9, que compreendeu a linhagem 39, e variou 1% em relação aos grupos G8 (linhagem 38), G10 (linhagem 40) e G11 (linhagens 41 a 43).

Na árvore filogenética resultante neste trabalho, encontramos uma amostra proveniente da Bolívia “*Dendropsophus* aff. *minutus* NMPCZE6V74240-1_L30”, ramificada com alta probabilidade posterior fora do “complexo *D. minutus*”, ou seja, correspondente às linhagens de 1 a 18 identificadas por Gehara et al. (2014). A amostra que correspondeu à linhagem 30 em Gehara et al. (2014) é identificada como “JMvec_NMP6V74240_1_SanAnt_Bol_L30”, depositada no GenBank como “KJ833256.1 *Dendropsophus* aff. *minutus* NMPCZE:6V74240/1”. Ainda no referido trabalho, a amostra que correspondeu à linhagem 7 está identificada como *Dendropsophus* gr. *minutus* JMvec_NMP6V51354_74240_2_Santonio_L7”, depositada no GenBank como “KJ833238.1 *Dendropsophus* sp. *minutus* group

NMPCZE:6V74240/2". Assim, acreditamos que a amostra que compõe a árvore filogenética neste trabalho pode refletir uma confusão quanto à identificação da amostra.

Amostras provenientes da região Amazônica, ao norte do rio Amazonas, não foram incluídas na matriz de distância genética por não ramificarem entre as linhagens correspondentes ao "complexo *D. minutus*".

7. Discussão

7.1. Comparação morfológica e molecular entre populações do “complexo *D. minutus*” de diferentes fitofisionomias

Dendropsophus minutus é uma espécie de pequeno porte com amplo polimorfismo intraespecífico em relação ao colorido dorsal, sem padrões de variação morfológica quando comparadas populações de diferentes fitofisionomias do Brasil.

Em nossas análises morfométricas, encontramos diferenças pontuais pouco expressivas comparando as regiões brasileiras Amazônica, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pampa. Entretanto, nas análises moleculares, as amostras que compuseram o “complexo *minutus*” foram registradas para as seguintes fitofisionomias: região Amazônica ao sul do rio Amazonas (AM2), Caatinga (CA), Cerrado (CE), Mata Atlântica (MA e MALT) e Pampa (PP).

Em relação às diferenças morfométricas entre as populações de *D. minutus* aqui analisadas, as regiões Amazônica (AM1 e AM2) e da Caatinga (CA) destacam-se pelos maiores valores encontrados na maioria das variáveis aqui analisadas. Na Caatinga, registramos larguras de cabeça maiores que comprimentos, o que não foi registrado nas demais fitofisionomias comparadas, que registraram cabeças ligeiramente mais longas do que larga. Ainda na região de Caatinga, os valores registrados para o comprimento do antebraço corresponderam a 1/6 do valor total do CRC, enquanto registramos CAB equivalente a 1/5 do CRC nas outras populações de *D. minutus*. Da mesma forma, a distância entre as narinas (DIN) representou 1/5 da LC total nas

populações AM1 e AM2, enquanto representou 1/4 da mesma medida nas demais fitofisionomias estudadas. Ainda, o diâmetro timpânico correspondeu a 1/7 do CC nas regiões AM1 e AM2, enquanto correspondeu a 1/6 nas demais populações.

A distância entre o olho e a narina também variou proporcionalmente entre as populações de *D. minutus* aqui comparadas. Enquanto DON correspondeu a 1/5 do CC nos espécimes registrados para as regiões AM1, CA e CE, a mesma medida correspondeu a 1/4 do CC nas populações das regiões AM2, MA e PP. Da mesma forma, a distância entre o olho e o tímpano correspondeu a 1/8 do CC nos espécimes registrados para as regiões AM1 e AM2, a 1/9 do CC nos indivíduos das regiões CA, CE e MA, e a mesma distância representou 1/10 do CC em *D. minutus* da região de Pampa.

Os maiores indivíduos (comprimento rostro-cloacal) de *D. minutus* foram registrados para a região AM2. Já os menores tamanhos de comprimento rostro-cloacal foram encontrados em regiões ao sul do Brasil, em ambientes de Mata Atlântica e de Pampa. Em vista disso, podemos afirmar que *D. minutus* segue padrão inverso à regra de Bergmann. A regra de Bergmann é um princípio ecológico que descreve o acréscimo no tamanho corpóreo de animais amplamente distribuídos quando encontrados em climas mais frios, enquanto menores tamanhos corpóreos encontram-se em regiões mais quentes (Mayr, 1956). Entretanto, Mayr (1954) diz que as regras ecológicas estão sujeitas às variações intraespecíficas e as espécies podem exibir tamanhos maiores em climas mais quentes. A regra de Bergmann se mostra amplamente aceita em animais endotérmicos, mas seu reconhecimento em anfíbios é

incerto (e.g. Ashton, 2002; Adams & Church, 2008), sendo que alguns estudos mostram que anfíbios podem seguir padrões inversos à regra de Bergmann (e.g. Adams & Church, 2008; Matthews & Miaud, 2007).

O mesmo resultado com *D. minutus* seguindo o padrão inverso foi obtido por Bandeira (2013) estudando o efeito da altitude no tamanho corpóreo de espécies de hilídeos na Serra do Mar do estado de São Paulo, entre as quais *D. minutus*. Segundo Bandeira (2013), as causas para esta espécie seguir o padrão inverso à regra de Bergman ainda são indeterminados.

Contudo, esse mesmo padrão não foi registrado em *D. minutus* por Oyamaguchi et al. (2016). Avaliando a influencia da umidade e temperatura em tamanhos corpóreos de *D. minutus* em gradiente Amazônia – Cerrado, Oyamaguchi et al. (2016) registraram machos de maiores tamanhos positivamente relacionados com a precipitação. Semelhante aos resultados aqui obtidos, Oyamaguchi et al. (2016) encontraram tamanhos corporais menores em espécimes identificados como *D. minutus* de regiões mais próximas ao rio Amazonas nos estados brasileiros do Amazonas e Pará e em amostras da região das Guianas, em locais que correspondem parcialmente à região AM1 deste trabalho. Contudo, algumas amostras analisadas por estes autores não fazem parte das linhagens consideradas do “complexo *D. minutus*” em Gehara et al. (2014) e poderiam representar unidades taxonômicas distintas de *D. minutus*.

Marcelino et al. (2009) analisaram padrões de variação fenotípica em *Hypsiboas bischoffi* [atualmente *Boana bischoffi* (Boulenger, 1887)] e também relatam correlação positiva entre tamanho corporal e

precipitação. A disponibilidade de água pode ser uma pressão seletiva que direcione evolutivamente as espécies pelo tamanho corporal ou afetando a disponibilidade de recursos, por exemplo (Marcelino et al., 2009). Nossos resultado, entretanto, evidenciaram comprimentos rostro-cloacais maiores em região de Caatinga, domínio semi-árido do Brasil, com valor médio de 22,07 mm, enquanto que na região de Mata Atlântica, segunda maior floresta tropical brasileira, foram registrados valores médios de 20,86 mm.

Todavia, as maiores médias morfométricas da maioria das variáveis resultaram em indivíduos da região Amazônica ao sul do rio Amazonas (AM2). As linhagens que ocorrem nesta região (linhagens 31 e 33) foram agrupadas em G5, conjuntamente às linhagens 29, 30, 32 e 34, agrupadas com alta probabilidade posterior (96%). Dessa forma, o grupo G5 está registrado para regiões de domínio Amazônico e de Cerrado. Em comparação à distribuição das linhagens de *D. minutus* em Gehara et al. (2014), aumentamos a área de abrangência da linhagem 31 para o município de Brianorte, MT, em região de Cerrado. Analisamos indivíduos das linhagens 31, 33 e 34 e registramos indivíduos da forma “bivittata” apenas para localidades de Cerrado no Mato Grosso do Sul, em região correspondente à linhagem 34. Nas linhagens 31 e 33 houve predominância da forma “minuta”.

Pertencentes à linhagem 33, conseqüentemente agrupadas ao G5, estão espécimes da região de Cerrado da Chapada dos Guimarães, MT, que corresponde à localidade tipo de *Hyla velata*, atualmente na sinonímia de *D. minutus*. A linhagem 33 está distribuída nos estados Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, sendo registrada também para o

Departamento de Santa Cruz, na Bolívia (Gehara et al., 2014). Não diferenciamos morfologicamente os espécimes desta localidade ($n = 6$), que apresentaram padrão de desenho dorsal predominantemente da forma “minuta”.

Sobre as distâncias genéticas dentro de cada grupo de linhagem, encontramos distanciamento de 0 a 1%. Neste caso, concordamos com Vences et al. (2005), que consideram estes valores como distâncias não significativas. Entretanto, quando avaliamos as distâncias entre os grupos de linhagens aqui estabelecidos, nossas análises resultaram em distâncias de 1 a 7%. Quando comparando as linhagens de *D. minutus* separadamente, Gehara et al. (2014) encontraram distanciamento de 1 a 8% entre as linhagens do “complexo *D. minutus*”.

Castiglia & Annesi (2011) estudaram a posição filogenética da espécie de lagarto *Lygodactylus angularis* Günther, 1893 e consideram um valor limiar para reconhecer novas espécies quando resultarem em distâncias de 7% para o fragmento 16S rDNA. Fouquet et al. (2007), avaliando a diversidade críptica de anuros na região Amazônia – Guianas através de fragmentos de 16S rDNA, sugerem que uma distância genética mais abrangente de 0,03 (3%) entre táxons poderia auxiliar na identificação de prováveis novas espécies. Fouquet et al. (2007) ainda sugerem que distâncias abaixo de 0,02 (2%) são fortemente correlacionadas com a distância geográfica das espécies, mas que valores acima de 0,05 (5%) podem sugerir espécies crípticas. Com isso, distâncias entre os grupos de linhagens que distanciaram-se entre 3% a 7% do grupo G4, que compreende as linhagens 23 a 28 – incluindo a

linhagem de espécimes da localidade tipo, poderiam indicar prováveis novas espécies em *D. minutus*.

A linhagem 33, que compreende espécimes da localidade tipo do táxon sinônimo *Hyla velata*, pertence ao grupo de linhagens G5, o qual compreende as linhagens 29 a 34 do “complexo *D. minutus*”. O agrupamento G5 distanciou-se do agrupamento G4 em 5%. O agrupamento G4 corresponde às linhagens 23 a 28 e abrange topótipos de *D. minutus* (linhagem 25). Gehara et al. (2014) mediram a distância genética entre as linhagens de *D. minutus* e encontraram distâncias de 6 a 7% entre a linhagem da população topotípica (linhagem 25) e as linhagens 29 a 34, que compõem o grupo G5. Apesar de distâncias genéticas relativamente mais expressivas, estas linhagens agruparam-se no “complexo *D. minutus*” e não encontramos diferenças morfológicas que separem o táxon sinônimo *Hyla velata* do taxon corrente *D. minutus*.

As maiores distâncias genéticas resultaram quando comparamos o agrupamento G5 com os grupos de linhagens G1 (7%) e G3 (6%). Esta maior distância genética entre G5 e G1 é comparável à distância geográfica destes exemplares, visto que o grupo G1 abriga as linhagens 19 e 20, registradas para Bahia, Piauí e norte de Espírito Santo e Minas Gerais. Camargo et al. (2006) sugerem que há correlação entre as distâncias genéticas e geográficas em *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799), espécie amplamente distribuída na Região Neotropical. Egito (2009) estudou a variação morfológica e genética encontrada na sequência do gene mitocondrial *cytochromo b* (*cytb*) de *D. minutus* e encontrou distâncias genéticas relacionadas positivamente com as

distâncias geográficas entre diferentes populações ao longo da distribuição da espécie no Brasil.

De fato, nas análises de distâncias moleculares, G1 distancia-se dos outros agrupamentos de linhagens em 6 a 7%. O agrupamento G1 compreende as linhagens 19 e 20, registradas para localidades pertencentes às fitofisionomias Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. No presente trabalho, inserimos na árvore filogenética um indivíduo macho fortemente relacionado às linhagens 19 e 20, mas sem precisão de sua linhagem. Este indivíduo (CFBH38010) é proveniente de Jequié, BA, região de Caatinga.

Na região da Caatinga, foram registrados os maiores valores médios de diâmetro timpânico e de distância entre as narinas nos indivíduos aqui analisados. Registramos simpatria de espécimes com desenhos dorsais do tipo “minuta” e “bivittata”, mas não classificamos nenhum indivíduo com desenho dorsal do tipo “sem padrão” nesta fitofisionomia. Tal ausência, porém, poderia ser confirmada aumentando-se o número amostral desta fitofisionomia ($n = 15$). Trabalhos que registram *D. minutus* na Caatinga concentram-se nos aspectos ecológicos, sem detalhar a morfologia dos espécimes registrados (e.g. Carvalho et al., 2005; Benício et al., 2015). Borges-Nojosa & dos Santos (2005), descrevendo a herpetofauna de localidades entre Caatinga e Mata Atlântica do estado Pernambuco, revelam desapontamento pela pouca quantidade de trabalhos de anfíbios no semi - árido brasileiro. As mesmas autoras revelam que a área de Mata Atlântica de Pernambuco é degradada, porém melhor estudada do que regiões da Caatinga, cujos

trabalhos, apesar de escassos, evidenciam importantes áreas de endemismo nesse bioma (Borges-Nojosa & dos Santos, 2005).

As linhagens 19 e 20 podem ser registradas simpatricamente com a linhagem 36 (Gehara et al., 2014). A linhagem 36 pode ser registrada em locais de Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica e mostrou-se proximamente relacionada com a linhagem 35, que é registrada em Gehara et al. (2014) para Alcântara, MA. As linhagens 35 e 36 compuseram o grupo G6 que distanciou-se 6% do grupo G1 (linhagens 19 e 20). Gehara et al. (2014) encontraram 7% de distância entre a linhagem 36 e as linhagens 19 e 20. Devido à distribuição dos espécimes destas linhagens, a morfometria foi analisada conjuntamente neste trabalho. No entanto, espécimes analisados que permitiram análise molecular e que foram identificados como pertencentes à linhagem 36 apresentaram padrão “bivittata”, registrados para a região de Cerrado.

Neste trabalho, o Cerrado brasileiro foi caracterizado com polimorfismos simpátricos com relação ao desenho dorsal das formas “minuta”, “bivittata” e “sem padrão”. Para esta fitofisionomia, registramos as linhagens 31, 33, 36, 40, 41, 42 e 43, que correspondem aos grupos G5, G6, G9, G9, G10 e G11. Gehara et al. (2014) também registram a linhagem 34 para fitofisionomias de Cerrado.

Alguns trabalhos registram *D. minutus* nas regiões de Cerrado das linhagens acima mencionadas e comentam sobre a morfologia dos espécimes. Em regiões de Cerrado dos estados Mato Grosso, Tocantins e Goiás há registros apenas das formas “minuta” e “sem padrão”, tanto em nossos resultados como em informações disponíveis na literatura (e.g. Solino-Carvalho et al., 2015; Noronha et al., 2015). Para regiões de

Cerrado do Mato Grosso do Sul, registramos apenas a forma “bivittata”, assim como não houve registros da forma “minuta” para o Cerrado no estado de São Paulo. Napoli & Caramaschi (1998) descrevem diferenças morfológicas ocorrendo ao longo da distribuição no Cerrado brasileiro em *Hyla tritaeniata* Bokermann, 1965 (= *Dendropsophus tritaeniatus*), cujas diferenças morfológicas possibilitaram a descrição duas novas espécies: *Hyla araguaya* (= *Dendropsophus araguaya*) e *Hyla cerradensis* (= *Dendropsophus cerradensis*), endêmicas do Cerrado. Não reconhecemos padrões de variação que diferenciem *D. minutus* nesta fisionomia.

Amplamente amostrada, a linhagem 40 (G10) é amostrada em regiões do Cerrado do Sudeste brasileiro, entre os estados São Paulo e Minas Gerais, podendo ser encontrada em ambientes de Mata Atlântica também. Esta linhagem registra espécimes com padrões dorsais das formas “minuta”, “bivittata” e “sem padrão”. Em comparação à distribuição geográfica desta linhagem em Gehara et al. (2014), ampliamos os registros para os municípios Itatiba, SP, e Pouso Alegre, MG.

A linhagem 40 se mostrou monofilética com a linhagem 39 em Gehara et al. (2014), mas a ramificação dessas linhagens resultaram em baixas probabilidades posteriores no presente trabalho. Assim, estas linhagens formaram grupos exclusivos para compararmos as distâncias genéticas existentes. Contudo, a linhagem 39 distanciou-se 1% da linhagem 40. Ambas distanciaram-se 4% do grupo G4, que contém topótipos de *D. minutus*. Como já colocado no início desta discussão, diferenças genéticas interespecíficas podem ser consideradas significativas quando maiores que 3%.

Em relação à linhagem 39 (G9), sua distribuição abrange áreas de Pampa e Mata Atlântica no Sul do Brasil, em área maior que 100000 km² (Gehara et al., 2014). A linhagem 39 compreende espécimes do município Lages, SC, em região de Mata Atlântica, que corresponde à localidade tipo de *H. bivittata* Boulenger, 1888, além de registros próximos a Porto Alegre, RS, localidade tipo de *H. emrichi* Mertens, 1927. O registro desta linhagem em Santa Maria, RS, amplia o limite Sul de ocorrência da linhagem disponível em Gehara et al. (2014).

Todos os indivíduos de *Dendropsophus minutus* registrados para a região de Pampa que foram submetidos à análise molecular pertenceram à linhagem 39. Entretanto, o indivíduo “SH43 | Santa Maria, RS” ramificou-se distante das outras espécies da árvore filogenética resultante neste trabalho. Este espécime foi coletado em plantação de arroz no *campus* da Universidade Federal de Santa Maria, identificado pelo canto de anúncio. Devido à sua posição na árvore filogenética, distante inclusive de espécimes coletados conjuntamente (SH42 e SH44), consultamos esta sequência de nucleotídeos na plataforma BLAST® do National Center for Biotechnology Information (NCBI). Obtivemos 100% de correspondência com as espécies *Dendropsophus walfordi* (Bokermann, 1962), com distribuição para centro e norte da bacia Amazônica (Frost, 2019) e *Dendropsophus berthalutzae* (Bokermann, 1962), registrada para regiões costeiras entre Paraná e Serra do Mar de São Paulo, até Espírito Santo (Frost, 2019). Portanto, com a necessidade de realizar mais análises, este espécime não foi incluído nas análises morfométricas e morfológicas do presente trabalho.

Além das maiores distâncias de Mahalanobis em relação à região Amazônica, indivíduos registrados para o Pampa apresentaram menor porte, com menores larguras de cabeça, com distância entre o olho e o tímpano proporcionalmente menor e distância entre olho e narina proporcionalmente maior em relação às outras fitofisionomias amostradas. Apesar disso, os indivíduos da região de Pampa não diferiram consideravelmente das outras populações amostradas.

Os espécimes registrados em ambientes caracterizados com o bioma Pampa apresentaram desenho dorsal predominantemente da forma “bivittata” e não houve registros da forma “minuta”, assim como em áreas de Mata Atlântica de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O padrão dorsal da forma “minuta” foi registrado na linhagem 39 apenas no estado do Paraná.

O registro de *D. minutus* em região de Pampa é frequente; entretanto, os trabalhos se limitam a registros da espécie em áreas específicas, sem detalhar morfologia ou ecologia de *D. minutus* (e.g. Loebmann & Vieira, 2005; Santos et al., 2008; Bolzan et al., 2014; Lipinski & Santos, 2014). Dessa forma, a lacuna de conhecimentos ecológicos específicos desta região limita especulações em relação ao padrão dorsal ou distribuição da linhagem 39. Essas informações tornam-se importantes à real delimitação de *D. minutus*, visto que a linhagem 39 distanciou-se da linhagem 25 (topótipos de *D. minutus*) em Gehara et al. em 4%, semelhantemente ao distanciamento de agrupamento de linhagens encontrados neste trabalho, onde G9 distanciou-se 4% de G4, que contém topótipos de *D. minutus*.

O grupo G4 compreendeu espécimes correspondentes às linhagens 23, 24, 26, 27, 28 e também a linhagem 25, que compreende espécimes de Nova Friburgo, RJ, localidade tipo de *D. minutus*. Estas linhagens estão distribuídas ao longo da porção serrana e litorânea da Mata Atlântica nos estados Rio de Janeiro e São Paulo. O grupo G4 apresentou maior distância genética (6%) quando comparado ao grupo G1 (linhagens 19 e 20), registrado para a Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica do Nordeste brasileiro. A diferenciação destas linhagens moleculares foi altamente suportada em Gehara et al. (2014) e em nossos resultados.

Amostras provenientes de coletas em campo na localidade tipo de *D. minutus*, Nova Friburgo, RJ, (SH40 e SH51) ramificaram-se com probabilidade posterior máxima (100%) junto às amostras correspondentes à linhagem 25, bem como as amostras de tecido de espécimes topótipos depositadas na coleção CFBHT e amostras da cidade de Santa Maria Madalena, RJ, distante aproximadamente 70 km de Nova Friburgo, RJ. Todos esses espécimes apresentaram padrão de coloração dorsal da forma “minuta”.

Agrupada conjuntamente aos topótipos da espécie em G4, a linhagem 28 também foi determinada para espécimes correspondentes às localidades tipo de táxons sinônimos de *D. minutus*. Os indivíduos de Duque de Caxias, RJ, município próximo a Bomsucesso, RJ, localidade tipo de *H. pallens* Lutz, 1925, apresentaram padrão dorsal da forma “minuta” e ramificaram com o grupo G4 com máxima probabilidade posterior (100%) em nossos resultado e em Gehara et al. (2014). Indivíduos de Teresópolis, RJ, localidade tipo de *H. suturata* Miranda-

Ribeiro, 1926, tiveram sua análise molecular realizada em Gehara et al. (2014), que identificaram a linhagem 28 para esses indivíduos. Aqui, examinamos espécimes provenientes de Teresópolis, RJ, apenas nas análises morfométricas e morfológicas. Todos os espécimes analisados de Duque de Caxias, RJ, e Teresópolis, RJ, apresentaram padrão dorsal da forma “minuta”. Entretanto, o agrupamento G4 apresentou simpatria de desenhos dorsais das formas “minuta”, “bivittata” e “sem padrão”. De fato, este grupo está totalmente inserido em região de Mata Atlântica, domínio fitogeográfico que apresentou simpatria destes padrões em geral, assim como o Cerrado.

As linhagens filogenéticas registradas para a Mata Atlântica (linhagens 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 35, 36, 37, 38, 39, 40 e 43) correspondem a todos os grupos selecionados para a matriz de distância, exceto o G5 (linhagens 29 a 34). De fato, trabalhos com anuros da Mata Atlântica têm mostrado alta variação molecular nas espécies (e.g. Fouquet et al., 2012; Sabbag et al., 2018; Walker et al., 2018; Ramos et al., 2019) e novas espécies vêm sendo descritas com base em diferenciações genéticas que concordam com variações morfológicas ou acústicas (e.g. Marciano-Jr et al., 2017; Malagoli et al., 2017; Monteiro et al., 2018; Santos et al., 2019).

Egito (2009) conclui que a Serra do Mar poderia estar agindo como uma barreira para a dispersão de espécimes, e isso poderia explicar a divergência fenotípica e molecular entre as populações de Mata Atlântica da Serra do Mar e populações do interior do estado de São Paulo. Tal região corresponderia principalmente à distribuição da linhagem 40

(G10), cuja distancia de G4 é de 4%, o que pode ser considerada expressiva.

Distanciamento genético relativamente significativo resultou da comparação dos grupos G3 e G4, ambos da Mata Atlântica. A ramificação dos espécimes correspondentes à linhagem 22 agruparam-se com alta probabilidade posterior em nossos resultados e em Gehara et al. (2014). Dessa forma, compuseram o grupo G3, o qual se distanciou 5% do grupo G4, que abriga topótipos da espécie. Apesar de tal distanciamento, a linhagem 22 pode ser registrada simpatricamente com a linhagem 27 (Gehara et al., 2014). A linhagem 22 incorpora espécimes da Mata Atlântica do Sudeste do Brasil, registrada para os estados de São Paulo e Minas Gerais, amostrada em apenas quatro localidades desta região, entre as serras do Mar e da Mantiqueira (Gehara et al., 2014). Da linhagem 22, examinamos apenas um espécime proveniente de Biritiba Mirim, SP, que apresentou dorso do tipo “sem padrão”.

Assim como a linhagem 22 (G3), outras linhagens que formaram grupos isoladamente para a comparação das distâncias genéticas foram as linhagens 21, 37 e 38, registradas para a Mata Atlântica. A linhagem 21 (G2) é exclusivamente registrada para um indivíduo coletado em Ibitirama, ES, e distancia-se 4% de G4. Analisamos três indivíduos registrados para a mesma localidade com padrão dorsal do tipo “minuta” e comprimento rostro cloacal médio de 19,85mm. A linhagem 37 (G7) é registrada apenas para Treviso, SC, cujo indivíduo apresentou padrão dorsal do tipo “bivittata”, assim como espécimes da linhagem 39 registrados nas proximidades de Treviso, SC. Seu grupo G7 resultou em distanciamento genético do agrupamento que engloba topótipos de *D.*

minutus (G4) de 5%. Já a linhagem 38 (G8) é registrada apenas em Viçosa, MG, e distanciou 4% do grupo G4. Estas linhagens correspondem a linhagens genéticas possivelmente microendêmicas da espécie segundo Gehara et al. (2014). Estas três linhagens ocorrem em regiões de considerável relevo acidentado, o qual pode permitir isolamento das linhagens e existência de espécies endêmicas (e.g. Alves et al., 2006; Ribeiro et al., 2015; Pie & Ribeiro, 2015). Entretanto, estas linhagens necessitam de mais estudos para sua real delimitação geográfica.

Concluindo, apesar de alta variabilidade molecular encontrada na espécie *D. minutus*, as variações morfológicas observadas aqui não são suficientes para separar linhagens moleculares significativamente distantes.

Ao longo da distribuição espacial de *D. minutus* no Brasil, podemos encontrar variações intra e interpopulacionais no colorido dorsal, com indivíduos caracterizados por apresentarem padrão dorsal do tipo “minuta”, com desenho principal em formato de ampulheta; padrão dorsal do tipo “bivittata”, com duas listras longitudinais principais no dorso; e coloridos dorsais do tipo “sem padrão”, com desenhos intermediários a estes dois padrões anteriores. Tais agrupamentos fenéticos, porém, não se diferenciaram morfometricamente.

Com distintas linhagens moleculares de *D. minutus* encontradas nas fitofisionomias aqui estudadas, as quais podem ser consideradas distantes geneticamente entre si e que compartilham a mesma fitofisionomia, concluímos que as variações morfológica e molecular da espécie não estão relacionadas aos biomas a que são registradas.

A ausência de variações morfométricas significativas não permite destacar caracteres diagnósticos que possam separar morfologicamente os taxa atualmente sinonimizados a *D. minutus*, assim como observado por Cochran (1955). No presente trabalho, examinamos espécimes provenientes das localidades Chapada dos Guimarães, MT (localidade tipo de *H. velata* Cope, 1887), Lages, SC (localidade tipo de *H. bivittata* Boulenger, 1888), Duque de Caxias, RJ (próximo da localidade tipo de *H. pallens* Lutz, 1925), Teresópolis, RJ (localidade tipo de *H. suturata* Miranda-Ribeiro, 1926) e Porto Alegre, RS (localidade tipo de *H. emrichi* Mertens, 1927). Nas análises de filogenia molecular, espécimes destas localidades ramificaram-se em linhagens correspondentes ao “complexo *D. minutus*” estabelecido em Gehara et al. (2014).

Com relação aos padrões dorsais “minuta” e “bivittata”, assim como indivíduos “sem padrão”, apesar da ausência de formas “bivittata” em locais ao norte do Brasil e ausência de formas “minuta” no extremo sul do país, explicações para tal distribuição ainda são desconhecidas. Segundo Delhey (2018), duas regras ecogeográficas principais explicam a variação na coloração dos animais: a regra de Bogert e a regra de Gloger. A Regra de Bogert, que sugere que, dentro das limitações genéticas específicas, modificações adaptativas em caracteres como tamanho, forma ou pigmentação em uma espécie amplamente distribuída permitiria a manutenção de temperaturas e umidades preferenciais da espécie, possibilitando a ocupação de diferentes habitats (Bogert, 1949). Com isso, animais ectotérmicos habitando regiões mais frias apresentam colorações mais escuras (Delhey, 2018). A Regra de Gloger também relaciona a coloração de aves e mamíferos com a temperatura ambiental

(Delhey, 2018), entretanto, para a Regra de Gloger, em regiões mais quentes e úmidas os animais apresentam colorações mais escuras (Millien et al., 2006; Kamilar & Bradley, 2011; Delhey, 2018). Entretanto, estas duas regras são focadas principalmente em variações na intensidade acromática interespecífica (Delhey, 2018), o que não corresponde ao polimorfismo observado entre as formas “minuta” e “bivittata” em *D. minutus*, apesar da coloração dorsal levemente mais escurecida na forma “minuta”, opostamente ao considerado na Regra de Bogert.

Polimorfismos na coloração dorsal têm sido descritos em várias espécies de *Dendropsophus* (e.g. Napoli & Caramaschi, 2000; Zina et al., 2014). Zina et al. (2014) revelam *Dendropsophus minusculus* (Rivero, 1971) com quatro padrões de coloração, caracterizados como polimorfismos intraespecíficos. Egito (2009), estudando a variação morfológica e molecular de *D. minutus*, atribui diferenças nos caracteres morfológicos a adaptações de microhabitats, porém estudos ecológicos e comportamentais mais aprofundados e que comparem os dois padrões de *D. minutus* podem esclarecer esta distribuição. Artigos que discutem variações morfológicas em relação a gradientes ambientais geralmente limitam-se a tamanhos corporais das espécies (e.g. Oyamaguchi et al., 2016; Goldberg et al., 2018).

Segundo Gehara et al. (2014), linhagens correspondentes aos agrupamentos G1, G2 e G3 ocorrem em refúgios criados no Pleistoceno, o que sugere estabilidade nestas áreas como causas da existência de linhagens profundamente divergentes. Nossas análises morfológicas não diferenciaram espécimes das referidas linhagens e regiões. Entretanto,

G1 resultou em distâncias moleculares relativamente significativas em comparação aos outros agrupamentos em *D. minutus* (de 5 a 7%). Segundo Hass et al. (1995), morfologias muito conservativas em anuros podem oferecer poucos caracteres diagnósticos que possam esclarecer relações filogenéticas, gerando espécies morfologicamente crípticas, com alta variabilidade molecular. Estudos demonstram que anfíbios podem exibir notável complexidade filogeográfica e divergências genéticas intraespecíficas, porém há necessidade de ampla escala temporal para que diferenças fenotípicas significativas possam evoluir (e.g. Hass et al., 1995; Zamudio & Savage, 2003), o que poderia expressar a atual posição da espécie *Dendropsophus minutus*.

7.2. *Dendropsophus goughi* e *Dendropsophus minutus*

Em nossos resultados, indivíduos identificados como *Dendropsophus minutus* em Manaus, AM, se mostraram fortemente relacionados com *Dendropsophus goughi* e relativamente distantes de *D. minutus*, apesar de não serem diferenciados morfológicamente. Estes espécimes não ramificaram na árvore filogenética junto com as linhagens chamadas “complexo *D. minutus*” (linhagens 19 a 43), ramificando junto às amostras denominadas *D. goughi*, com indivíduos provenientes de Trinidad e Tobago, identificados como a linhagem 4.

O táxon *D. goughi* (*Hyla goughi*) foi descrito por Boulenger em 1911, com base em espécimes coletados por Dr. Lewis H. Gough em Trinidad. Boulenger (1911) descreve os espécimes morfológicamente em detalhes e ilustrações (figura 12), cuja coloração dorsal descrita se assemelha a *D. minutus*.

Quando comparamos espécimes correspondentes ao “complexo *minutus*” aqui analisados com a descrição original de *H. goughi* (*D. goughi*) por Boulenger (1911), ambas apresentaram desenho dorsal em formato de ampulheta (forma “*minuta*”) ou em listras paralelas longitudinais (forma “*bivittata*”), a cabeça levemente mais larga que longa e região ventral branca. Boulenger (1911) descreve tímpano fracamente distinto, medindo $1/3$ do diâmetro do olho, semelhante ao que encontramos aqui para espécimes da Mata Atlântica. Boulenger (1911) descreve que a tibia de *D. goughi* representa metade do comprimento da cabeça e corpo; aqui, o CT resultou em valores um pouco maiores que a metade do CRC. Outra pequena diferença encontrada foi em relação ao canto rostral, que se mostrou fracamente marcado em *D. goughi* segundo

Boulenger (1911), porém esta característica foi variável em nossas análises, podendo ser fortemente ou fracamente marcado, inclusive em amostras ao norte do rio Amazonas (AM1).

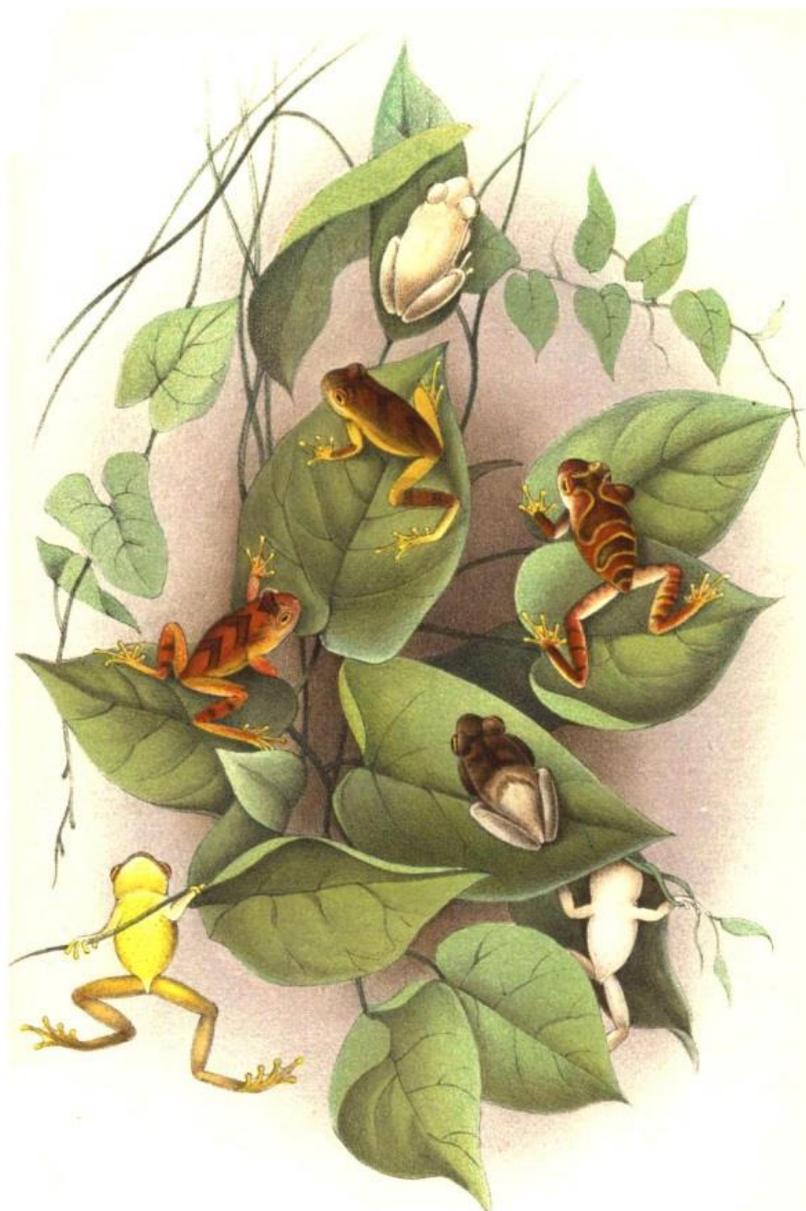


Figura 12. Ilustração de J. Green disponível em Boulenger (1911) dos espécimes de *Hyla goughi* observados pelo autor. Figura corresponde a “Plate LXIV” em Boulenger (1911).

No presente trabalho, não examinamos espécimes suficientes para compararmos caracteres de indivíduos provenientes de Trinidad e Tobago com *D. minutus* de Nova Friburgo, RJ. Comparamos, porém, a descrição original à análise morfológica externa do espécime MZUSP14151, registrado para Saint Benedict, próximo de Saint Joseph, em Trinidad e Tobago. Notamos o padrão de desenho na forma “minuta” e há diferença notável no comprimento rostro cloacal. Os espécimes descritos por Boulenger (1911) se mostraram com tamanhos maiores (22 mm) do que indivíduo MZUSP14151, com CRC 20,95 mm.

Lutz (1973) considera *H. goughi* como sinônimo de *H. minuta* devido às ilustrações em Boulenger (1911). Com isso, até recentemente, o táxon *H. goughi* se encontrava como sinônimo de *D. minutus*. Entretanto, a mesma diferenciação molecular encontrada em nossos resultados foi evidenciada em Gehara et al. (2014), os quais sugeriram a remoção da sinonímia deste táxon.

Estudos comparando diferentes populações de *D. minutus* já mostraram diferenças no canto e em sequências moleculares de outros fragmentos de gene. Diferenças no canto de *D. minutus* foram relatadas por Köhler (2000), que encontrou variações quando comparou cantos gravados na Bolívia com cantos descritos de localidades ao norte do rio Amazonas em Donnelly & Myers (1991), além de encontrarem semelhanças com os cantos registrados no estado de Minas Gerais, descritos nos trabalhos de Haddad et al. (1988) e no estado de São Paulo, descritos por Heyer et al. (1990). Egito (2009) também encontrou diferenças genéticas profundas no gene mitocondrial *cytochromo b* entre espécimes da Amazônia e da Mata Atlântica, como também entre

espécimes de Manaus, AM, e Chapada dos Guimarães, Mato Grosso. Recentemente, Barrio-Amorós et al. (2019), catalogando anfíbios anuros da Venezuela, examinaram o espécime tipo de *Hyla goughi* (BMNH 1947.2.13.12) e o relacionaram à *Dendropsophus microcephalus* (Cope, 1886), enquanto um sítipo de *H. goughi* foi relacionado com *Dendropsophus* aff. *minutus* no mesmo trabalho. Subsequentemente, Hedges et al. (2019) definiram a herpetofauna das ilhas do Caribe, incluindo a ilha de Trinidad e descrevem o encontro de *Dendropsophus goughi*, considerando-o como um táxon válido, seguindo Gehara et al. (2014). Contudo, em Frost (2019), *Dendropsophus goughi* está atualmente estabelecido como uma unidade taxonômica independente.

Segundo Vences et al. (2005b), muitas espécies de anuros podem ser similares morfológicamente e fortemente diferenciados pelo canto ou geneticamente, o que poderia caracterizar a semelhança morfológica entre *Dendropsophus minutus* e *D. goughi*.

Apesar disso, o não registro de *D. minutus* em Manaus, AM, não necessariamente representa a ausência desta espécie nesta localidade, visto que apenas três indivíduos compuseram esta amostra. Contudo, há a possibilidade de grandes rios da Bacia Amazônica agirem como uma barreira à diferenciação em *D. minutus*. A Bacia Amazônica compreende os maiores rios do planeta – Amazonas, Negro, Madeira e Japurá (Latrubesse et al., 2017). O rio Amazonas possui maior fluxo de água desta bacia, tem sua nascente na região peruana dos Andes e recebe várias denominações até sua foz, onde recebe o nome de “rio Amazonas”. Godinho & Silva (2018) identificaram nove regiões biogeográficas para a distribuição de anuros na Floresta Amazônica e,

para estes autores, grandes rios Amazônicos podem ser barreiras fluviais para a distribuição de anuros. Wynn & Heyer (2001) encontraram maior semelhança genética entre espécimes de *Leptodactylus fuscus* do norte Amazônico, entre a ilha de Tobago e Roraima, Brasil, e menor similaridade nas amostras localizadas mais ao sul Amazônico. Gascon et al. (1998) estudaram quatro espécies de anuros com diferenciação molecular populacional no rio Juquiá, Floresta Amazônica, mas não encontraram suporte para a hipótese de efetivo isolamento causado pelo rio.

Concluindo, as amostras de *D. goughi* provenientes de Manaus, AM, não apresentaram diferenciação da morfologia externa com exemplares de *D. minutus* aqui analisados e as diferenças entre estas espécies restringem-se à distribuição geográfica e às sequências moleculares.

8. Conclusões

As populações de *Dendropsophus minutus* analisadas apresentaram variação no comprimento do antebraço, no diâmetro timpânico, na distância entre as narinas e na distância entre os olhos. Contudo, as diferenciações morfométricas encontradas não foram associadas com as diferentes fitofisionomias brasileiras de uma maneira geral, com exceção das amostras provenientes de ambientes da Caatinga que registraram cabeças ligeiramente mais longas do que largas, diferindo das demais regiões.

D. minutus apresenta amplo polimorfismo intrapopulacional em relação ao colorido dorsal, permitindo identificar o colorido dorsal com formas “minuta”, “bivittata” ou formas “sem padrão”. Tais variações não foram associadas com as fitofisionomias brasileiras em que os espécimes são registrados. Destaca-se, porém, a ausência de formas “minuta” em localidades ao sul do Brasil, enquanto a forma “bivittata” não foi registrada no norte do país.

Apesar da ampla variação molecular encontrada no fragmento 16S em *D. minutus*, não houve relação entre os padrões de variação molecular das populações de *D. minutus* e as fitofisionomias em que foram registradas. As linhagens moleculares identificadas estão distribuídas nas diferentes fitofisionomias. Da mesma forma, nossas análises moleculares não evidenciaram associações com o padrão de desenho dorsal dos indivíduos.

As amostras provenientes de Manaus, AM, foram geneticamente identificadas como *Dendropsophus goughi* e apresentam diferenciação

de *D. minutus* restritamente à distribuição geográfica e às sequências moleculares, não havendo diferenciação da morfologia externa entre essas espécies.

9. Referências Bibliográficas

AB'SABER, A. **Os domínios de natureza no Brasil – Potencialidades Paisagísticas**. Ateliê Editorial. São Paulo, Brasil. 2003.

ADAMS, D. C. & CHURCH, J. O. **Amphibians do not follow Bergmann's rule**. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*. 62-2: 413 – 420. 2008.

ALVES, A. C. R.; RIBEIRO, L. F.; HADDAD, C. F. B. & REIS, S. F. DOS. **Two new species of *Brachycephalus* (Anura: Brachycephalidae) from the Atlantic Forest in Paraná state, southern Brazil**. *Herpetologica*. 62 (2): 221 – 233. 2006.

ASHTON, K. G. **Do amphibians follow Bergmann's rule?** *Canadian Journal of Zoology*. 80 (4): 708 – 716. 2002.

BANDEIRA, L. N. **Variação no tamanho corpóreo e cantos de anúncio de hilídeos (ANURA) na Serra do Mar**. Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, SP. 2013.

BARRIO, A. **Sobre la validez de *Hyla sanborni* K. P. Schmidt e *H. uruguayana* K. P. Schmidt (Anura, Hylidae)**. *Physis*. XXVI, número 73, pp. 521 – 524. Buenos Aires, Argentina. 1967.

BARRIO-AMORÓS, C. L.; ROJAS-RUNJAIC, F. J. M. & SEÑARIS, J. C.

Catalogue of the amphibians of Venezuela: Illustrated and annotated species list, distribution, and conservation. Amphibian & Reptile Conservation. 13 (1) [Special Section]: 1-198 (e180). 2019.

BAUMANN, F. **Brasilianische Batrachier des Berner Naturhistorischen Museums nebst Untersuchungen über die geographische Verbreitung der Batrachier in Brasilien.** Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Geographie und Biologie der Tiere. Jena, Alemanha. Volume 33, pp. 87 – 172. 1912.

BEÇAK, M. L. **Chromosomal analysis of eighteen species of Anura.** Caryologia. 21: 3, 191 – 208. 1968.

BENÍCIO, R. A.; DA SILVA, G. R. & FONSECA, M. G. **Anurans from a Caatinga area in state of Piauí, northeastern Brazil.** Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão. 37 (2): 207 – 217. 2015.

BICKFORD, D.; LOHMAN, D. J.; SODHI, N. S.; NG, P. K. L.; MEIER, R.; WINKER, K.; INGRAM, K. K. & DAS, I. **Cryptic species as a window on diversity and conservation.** Science Direct. Elsevier. 22: 148 – 155. 2006.

BOGERT, C. M. **Thermoregulation in reptiles, a factor in evolution.** Evolution: International Journal of Organic Evolution. The Society for the Study of Evolution. Vol. III, n. 3. 1949.

BOLZAN, A. M. R.; HARTMANN, P. A. & HARTMANN, M. T. **Diversidade de anfíbios anuros de uma área de Pampa no município de São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil.** Iheringia. Série Zoologia. 104 (3): 277 – 283. 2014.

BORGES-NOJOSA, D.M. & DOS SANTOS, E. M. **Herpetofauna da área de Betânia e Floresta, Pernambuco.** In: ARAÚJO, F. S. DE; RODAL, M. J. N.; BARBOSA, M. R. DE V. (Org.) Análise das variações da biodiversidade do bioma Caatinga: suporte a estratégias regionais de conservação. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, Secretaria da Biodiversidade e Florestas. Pp. 276-289. 2005.

BOUCKAERT, R.; HELED, J.; KÜHNERT, D.; VAUGHAN, T.; WU, C-H.; XIE, D.; RAMBAUT, A. & DRUMMOND, A. J. **BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis.** PLoS Computational Biology 10(4): e1003537. Disponível em <<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003537>>. 2014.

BOULENGER, G. A. **Catalogue of the Batrachia Salientia S. Ecaudata in the collection of the British Museum.** Londres. 1882.

BOULENGER, G. A. **Descriptions of new Brazilian Batrachians.** Annals and Magazine of Natural History. Series 6, número 1, páginas 187-189. 1888.

BOULENGER, G. E. **On a new tree-frog from Trinidad, living in the Society's Gardens**. Proceedings of the Zoological Society of London. Páginas 1082-1083. 1911.

BRASIL. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Infográficos**. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/>> Acesso em maio de 2018.

CAMARGO, A.; DE SÁ, R. O. & HEYER, R. **Phylogenetic analyses of mtDNA sequences reveal three cryptic lineages in the widespread Neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) (Anura, Leptodactylidae)**. Biological Journal of the Linnean Society. 87, 325 – 341. 2006.

CARDOSO, A. J. **Organização espacial e temporal na reprodução e vida larvária em uma comunidade de hílídeos no Sudeste do Brasil (Amphibia, Anura)**. Dissertação de mestrado. Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 1981.

CARDOSO, A. J. & HADDAD, C. F. B. **Variabilidade acústica em diferentes populações e interações agressivas de *Hyla minuta* (Amphibia, Anura)**. Ciência e Cultura. 36(8):1393–1399. 1984.

CARVALHO, C. M.; VILAR, J. C. & OLIVEIRA, F. F. **Répteis e anfíbios**. In: Parque Nacional Serra de Itabaiana – Levantamento da Biota. Aracaju, Ibama, Biologia Geral e Experimental – UFS. Pp. 39-61. 2005.

CASSINI, C. S.; CRUZ, C. A. G.; CARAMASCHI, U. **Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae).** Zootaxa, v. 2491, p. 1-33. 2010.

CASTIGLIA, R. & ANNESI, F. **The phylogenetic position of *Lygodactylus angularis* and the utility of using the 16S rDNA gene for delimiting species in *Lygodactylus* (Squamata, Gekkonidae).** Acta Herpetologica 6(1): 35-45. 2011.

COCHRAN, D. M. **Frogs of Southeastern Brazil.** United States National Museum. Bulletin 206. 1955.

COCHRAN, D. M. **Type Specimens of Reptiles and Amphibians in the U. S. National Museum.** Smithsonian Institution. United States National Museum. Bulletin 220. 1961.

COPE, E. D. **Synopsis of the Batrachia and Reptilia obtained by H. H. Smith, in the Province of Mato Grosso, Brazil.** Proceedings of the American Philosophical Society. Volume 24, páginas 44-60.1887.

DARRIBA, D.; TABOADA, G. L.; DOALLO, R. & POSADA, D. **jModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing.** Nature Methods 9(8): 772. 2012.

DAUDIN, F. M. **Historie Naturelle des Rainettes, des grenouilles et des crapauds.** Bertrandet, Levrault Librarie. Paris. 1802.

DE QUEIROZ, K. **Species concepts and species delimitation.** Systematic Biology. Vol. 56, n. 6, pp. 879-886. 2007.

DELHEY, K. **Darker where cold and wet: Australian birds follow their own version of Gloger's rule.** Ecography. 41: 673-683. 2018.

DONNELLY, M. A. & MYERS, C. W. **Herpetological results of the 1990 Venezuelan expedition to the Summit of Cerro Guaiquinima, with new Tepui reptiles.** American Museum Novitates. N. 3017, 54 pp., 33 fig., 8 tab. 1991.

DUELLMAN, W. E. **The Hylid frogs of Middle America.** Volume 1. Monograph of the Museum of Natural History. The University of Kansas. 1970.

DUELLMAN, W. E. **Hylid Frogs of Middle America.** Second Edition. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Contributions to Herpetology. Monographs of the Museum of Natural History. University of Kansas 1-2:1-753. 2001.

DUELLMAN, W. E. & COLE, C. J. **Studies of chromosomes of some anuran amphibians (Hylidae and Centrolenidae).** Systematic Zoology. Volume 14, número 2, páginas 139-143. 1965.

DUELLMAN, W. E. & TRUEB, L. **Frogs of the *Hyla Columbiana* group: Taxonomy and phylogenetic relationships.** Advances in Herpetology and Evolutionary Biology. Páginas 33-51. 1983.

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

EDGAR, R. C. **MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput.** Nucleic acids research 32(5):1792–7. DOI: 10.1093/nar/gkh340. 2004.

EGITO, G. T. B. T. **Variabilidade genética e relações interpopulacionais de *Dendropsophus minutus* do Brasil.** Dissertação de mestrado. Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2009.

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

FITZINGER, L. **Systema Reptilium.** Fasciculus Primus. Amblyglossae. Vindobonae. Apud Braumüller et Seidel Bibliopolas. 1843.

FOUQUET, A.; GILLES, A.; VENCES, M.; MARTY, C.; BLANC, M. & GEMMEL, N. J. **Underestimation of species richness in Neotropical frogs revealed by mtDNA analyses.** PLoS ONE 2(10): e1109. DOI:10.1371/journal.pone.0001109. 2007.

FOUQUET, A.; RECORDER, R.; TEIXEIRA Jr., M.; CASSIMIRO, J.; AMARO, R. C.; CAMACHO, A.; DAMASCENO, R. CARNAVAL, A. C.; MORITZ, C. & RODRIGUES, M. T. **Molecular phylogeny and morphometric analyses reveal deep divergence between Amazonian and Atlantic Forest species of *Dendrophryniscus*.** Elsevier. Molecular Phylogenetics and Evolution. 62: 826-838. 2012.

FROST, D. R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0.** Eletronic Database. Disponível em <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>>. American Museum of Natural History, New York, USA. 2019. Último acesso em novembro de 2019.

GASCON, C.; LOUGHEED, S. C. & BOGART, J. P. **Patterns of genetic population differentiation in four species of Amazonian frogs: a test of riverine barrier hypothesis.** Biotropica, vol. 30, núm. 1, pág. 104-119. 1998.

GEHARA, M.; CRAWFORD, A. J.; ORRICO, V. G. D.; RODRIGUEZ, A.; LÖTTERS, S.; FOUQUET, A.; BARRIENTOS, L. S.; BRUSQUETTI, F.; DE LA RIVA, I.; ERNST, R.; URRUTIA, G. G.; GRAW, F.; GUAYASAMIN, J. M.; HÖLTING, M.; JANSEN, M.; KOK, P. J. R.; KWET, A.; LINGNAU, R.; LYRA, M.; MORAVEC, J.; POMBAL JR., J. P.; ROJAS-RUNJAIC, F. J. M.; SCHULZE, A.; SEÑARIS, J. C.; SOLÉ, M.; RODRIGUES, M. T.; TWOMEY, E.; HADDAD, C. F. B.; VENCES, M.; KÖHLER, J. **High levels of diversity uncovered in a widespread nominal taxon: Continental phylogeography of the Neotropical tree frog *Dendropsophus minutus***. PLoS One 9: e103958. 2014.

GODINHO, M. B. de C. & SILVA, F. R. **The influence of riverine barriers, climate, and topography on the biogeographic regionalization of Amazonian anurans**. Nature. Scientific reports. 8: 3427. DOI: 10.1038/s41598-018-21879-9. 2018.

GOLDBERG, J.; CARDOZO, D.; BRUSQUETTI, F.; VILLAFANE, D. B.; GINI, A. C. & BIANCHI, C. **Body size variation and sexual size dimorphism across climatic gradients in the widespread treefrog *Scinax fuscovarius* (Anura, Hylidae)**. Austral Ecology. Vol. 43, pp.35-45. 2018.

HADDAD, C. F. B.; ANDRADE, G. V. & CARDOSO, A. J. **Anfíbios anuros no Parque Nacional da Serra da Canastra, estado de Minas Gerais**. Brasil Florestal. 64 (24): 9 – 20. 1988.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T. & RYAN, P. D. **PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis.**

Paleontologica Electronica 4(1):9. 2001.

HASS, C. A.; DUNSKI, J. F.; MAXSON, L. R. & HOOGMOED, M. S. **Divergent lineages within the *Bufo margaritifera* complex (Amphibia: Anura; Bufonidae) revealed by albumin immunology.** Biotropica 27(2): 238-249. 1995.

HAWKINS, M. A.; SITES JR., J. W. & NOONAN, B. P. ***Dendropsophus minutus* (Anura: Hylidae) of the Guiana Shield: using DNA barcodes to assess identity and diversity.** Zootaxa. 1540: 61-67. 2007.

HEDGES, S. B.; POWELL, R.; HENDERSON, R. W.; HANSON, S. & MURPHY, J. C. **Definition of the Caribbean Islands biogeographic region, with checklist and recommendations for standardized common names of amphibians and reptiles.** Caribbean herpetology. 67, 1-53. DOI: 10.31611/ch.67. 2019.

HEYER, R. W.; RAND, A. S.; CRUZ, C. A. G.; PEIXOTO, O. L. & NELSON, C. R. **Frogs of Boracéia.** Arquivos de Zoologia. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 31 (4): 231 – 410. 1990.

KAISER, H.; MAIS, C.; BOLAÑOS, F.; STEINLEIN, C.; FEICHTINGER, W.; SCHMID, M. **Chromosomal investigation of three Costa Rican frogs from the 30-chromosome radiation of *Hyla* with the description of a unique geographic variation in nucleolus organizer regions.** Genetica. Volume 98, páginas 95-102. 1996.

KAMILAR, J. M. & BRADLEY, B. J. **Interspecific variation in primate coat colour supports Gloger's rule.** Journal of Biogeography. DOI:10.1111/j.1365-2699.2011.02587.x. 2011.

KAPLAN, M. **A new species of frog of the genus *Hyla* from the Cordillera Oriental in Northern Colombia with comments on the taxonomy of *Hyla minuta*.** Society for the study of Amphibians and Reptiles. Journal of Herpetology 28:79–87. 1994.

KELLOGG, R. **Mexican tailless Amphibians in the United States National Museum.** Smithsonian Institution. United States National Museum. Bulletin 160. 1932.

KÖHLER, J. **Amphibian diversity in Bolivia: a study with special reference to Montane Forest regions.** Bonner Zoologische Monographien. Zoologisches forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig Bonn. 2000.

KUMAR, S.; STECHER, G. & TAMURA, K. **MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets.**

Molecular Biology and Evolution (submitted). 2015.

LANGONE, J. A. **Revalidacion de *Hyla uruguayana* Schmidt, 1944 (Amphibia, Anura, Hylidae).** Comunicaciones Zoológicas del Museo de

Historia Natural de Montevideo. Volume 12, número 172. 1990.

LATRUBESSE, E. M.; ARIMA, E. Y.; DUNNE, T.; PARK, E.; BAKER, V. R.; D'HORTA, F. M.; WIGHT, C.; WITTMANN, F.; ZUANON, J.; BAKER, P. A.; RIBAS, C. C.; NORGAARD, R. B.; FILIZOLA, N.; ANSAR, A.; FLYVBJERG, B. & STEVAUX, J. C. **Damming the rivers of the Amazon basin.** Nature. 546: 363-369. 2017.

LAURENTI, J. N. **Specimen Medicum, Exhibens Synopsin Reptilium Emendatum cum Experimentis Circa Venena et Antidota Reptilium Austriacorum.** Typ. Joan. Thom. Nob. de Trattnern. Viena, Áustria. 1768.

LIPINSKI, V. M. & SANTOS, T. G. DOS. **Estrutura e organização espacial de duas comunidades de anuros do bioma Pampa.** Iheringia.

Série Zoologia. Porto Alegre. 104 (4): 462-469. 2014.

LOEBMANN, D. & VIEIRA, J. P. **Relação dos anfíbios do Parque Nacional da Lagoa do Peixe, Rio Grande do Sul, Brasil.** Revista

Brasileira de Zoologia. 22 (2): 339 – 341. 2005.

LUTZ, A. **Batraciens du Brésil**. Comptes rendus des séances de la Société de Biologie et de ses filiales. Volume 2, páginas 211-214. 1925.

LUTZ, B. **Brazilian Species of *Hyla***. University of Texas Press. Austin & London. 1973.

MALAGOLI, L. R.; SÁ, F. P.; CANEDO, C. & HADDAD, C. F. B. **A new species of *Hylodes* (Anura, Hylodidae) from Serra do Mar, Southeastern Brazil: the fourth with nuptial thumb tubercles**. Herpetologica. 73 (2): 136-147. 2017.

MARCELINO, V. R.; HADDAD, C. F. B. & ALEXANDRINO, J. **Geographic distribution and morphological variation of striped and nonstriped populations of the brazilian Atlantic Forest treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae)**. Journal of Herpetology. Vol. 43, n. 2, pp. 351-361. 2009.

MARCIANO-JR, E.; LANTYER-SILVA, A. S. & SOLÉ, M. **A new species of *Phyllodytes* Wagler, 1830 (Anura, Hylidae) from the Atlantic Forest of southern Bahia, Brazil**. Zootaxa. 4238 (1): 135-142. 2017.

MATTHEWS, K. R. & MIAUD, C. **A skeletochronological study of the age structure, growth, and longevity of the Mountain Yellow-legged frog, *Rana muscosa*, in the Sierra Nevada, California**. Copeia. Vol. 4, pp. 986-993. 2007.

MAYR, E. **Change of genetic environment and evolution.** In: HUZLEY, J.; HARDY, A. C. & FORD, E. B. (eds.) *Evolution as a process.* Pp. 157-180. 1954.

MAYR, E. **Geographical character gradients and climatic adaptation.** *Evolution.* Vol. 10, n. 1, pp. 105-108. Harvard University. 1956.

MAYR, E. **Animal species and evolution.** Harvard University Press. Cambridge. 797 pp. 1963.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W. & SCHWARTZ, T. **Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees.** *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE).* 2010.

MILLIEN, V.; LYONS, S. K.; OLSON, L.; SMITH, F. A.; WILSON, A. B. & YOM-TOV, Y. **Ecotypic variation in the context of global climate change: revisiting the rules.** *Ecology Letters.* 9: 853-869. 2006.

MIRANDA-RIBEIRO, A. **Notas para servirem ao estudo dos Gymnobatrachios (Anura) brasileiros.** *Arquivos do Museu Nacional.* Volume 27. 1926.

MIRANDA-RIBEIRO, P. **Tipos das espécies e subespécies do Prof. Alípio de Miranda-Ribeiro depositados no Museu Nacional.** Arquivos do Museu Nacional. Volume 42, páginas 389-417. 1955.

MONTEIRO, J. P. C.; CONDEZ, T. H.; GARCIA, P. C. A.; COMITTI, E. J.; AMARAL, I. B. & HADDAD, C. F. B. **A new species of *Brachycephalus* (Anura, Brachycephalidae) from the coast of Santa Catarina State, southern Atlantic Forest, Brazil.** Zootaxa. 4407 (4): 483-505. 2018.

NAPOLI, M. F. & CARAMASCHI, U. **Duas novas espécies de *Hyla* Laurenti, 1768 do Brasil Central afins de *H. tritaeniata* Bokermann, 1965 (Amphibia, Anura, Hylidae).** Boletim do Museu Nacional. Zoologia. Número 391. 1998.

NAPOLI, M. F. & CARAMASCHI, U. **Description and variation of a new brazilian species of the *Hyla rubicundula* group (Anura, Hylidae).** Alytes, 17(3-4): 165-184. 2000.

NORONHA, J. C.; LIMA, M. M.; VELASQUEZ, C. L.; ALMEIDA, E. J.; BARROS, A. B. & RODRIGUES, D. J. **Update das espécies de anuros da Fazenda São Nicolau, Mato Grosso, Brasil.** Scientific electronic archives. Vol. 8, n. 1. Disponível em <http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=126>. 2015.

OYAMAGUCHI, H. M.; OLIVEIRA, E. & SMITH, T. B. **Environmental drivers of body size variation in the lesser treefrog (*Dendropsophus minutus*) across the Amazon-Cerrado gradient.** Biological Journal of the Linnean Society. 120: 363-370. 2016.

PALUMBI, S. R.; MARTIN, A.; ROMANO, S.; McMILLAN, W. O.; STICE, L. & GRABOWSKI, G. **The simple fool's guide to PCR.** Version 2.0. Disponível em <<https://palumbilab.stanford.edu/publications.html>>. 2002.

PETERS, W. C. H. **Über eine Sammlung von Batrachiern aus Neu Freiburg in Brasilien.** Monatsberichte der Königlich Preussische Akademie des Wissenschaften zu Berlin. Páginas 680-684. 1872.

PIE, M. R. & RIBEIRO, L. F. **A new species of *Brachycephalus* (Anura: Brachycephalidae) from the Quiriri mountain range of southern Brazil.** PeerJ 3:e1179. DOI 10.7717/peerj.1179. 2015.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Disponível em <<https://www.r-project.org>>. 2018.

RAFINESQUE, C. S. **Analyse de la Nature ou Tableau de L'Univers et des Corps Organisés.** Palermo, Itália. 1815

RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A. J.; XIE, D.; BAELE, G. & SUCHARD, M.

A. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer

1.7. Systematic Biology. syy032. DOI:10.1093/sysbio/syy032. 2018.

RAMOS, E. K. S.; MAGALHÃES, R. F.; MARQUES, N. C. S.; BAËTA, D.;

GARCIA, P. C. A. & SANTOS, F. R. **Cryptic diversity in Brazilian**

endemic monkey frogs (Hylidae, Phyllomedusinae, *Pithecopus*)

revealed by multispecies coalescent and integrative approaches.

Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol. 132, pp. 105 – 116. 2019.

RIBEIRO, L. F.; BORNSCHEIN, M. R.; BELMONTE-LOPES, R.;

FIRKOWSKI, C. R.; MORATO, S. A. A. & PIE, M. R. **Seven new**

microendemic species of *Brachycephalus* (Anura:

***Brachycephalidae*) from southern Brazil.** PeerJ 3:e1011; DOI

10.7717/peerj.1011. 2015.

RIVADENEIRA, C. D.; VENEGAS, P. J. & RON, S. R. **Species limits**

within the widespread Amazonian treefrog *Dendropsophus*

***parviceps* with descriptions of two new species (Anura, Hylidae).**

ZooKeys. 726: 25-77. DOI: 10.3897/zookeys.726.13864. 2018.

SABBAG, A. F.; LYRA, M. L.; ZAMUDIO, K. R.; HADDAD, C. F. B.; FEIO,

R. N. LEITE, F. S. F.; FASPARINI, J. L. & BRASILEIRO, C. A. **Molecular**

phylogeny of Neotropical rock frogs reveals a long history of

viariant diversification in the Atlantic forest. Elsevier. Molecular

Phylogenetics and Evolution. 122: 142-156. 2018

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F. & MANIATIS, T. **Molecular cloning: A laboratory manual**. Cold Spring Harbor Laboratory. EUA. 1982.

SANTOS, T. G. DOS; KOPP, K.; SPIES, M. R.; TREVISAN, R. & CECHIN, S. Z. **Distribuição temporal e espacial de anuros em área de Pampa, Santa Maria, RS**. Iheringia. Sér. Zool., Porto Alegre. 98 (2): 244-253. 2008.

SANTOS, M. T. T.; OLIVEIRA, S. H.; CARVALHO, T. R.; ZAIDAN, B. F.; SILVA, N. R.; BERNECK, B. V. M. & GARCIA, P. C. A. **A new species of *Paratelmatobius* (Anura: Leptodactylidae: Paratelmatobinae) from the Atlantic Forest of Southern Brazil**. Zootaxa. 4648 (3): 473-493. 2019.

SCHMIDT, K. P. **New frogs from Misiones and Uruguay**. Zoological Series of Field Museum of Natural History. Vol. 29, p. 153-160. 1944.

SOLINO-CARVALHO, L. A.; MASSOLI JUNIOR, E. V.; JESUS, N. R.; SILVA, K. A. DA & MUDREK, J. R. **Riqueza e composição de anfíbios em área de Cerrado fragmentada no município de Cuiabá**. Caderno de Publicações Univag. Meio Ambiente, Desenvolvimento Regional e Educação. Número 7. 2015.

VENCES, M.; THOMAS, M.; VAN DER MEIJDEN, A.; CHIARI, Y. & VEITES, D. R. **Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians.** *Frontiers in Zoology*. 2:5. 2005. DOI: 10.1186/1742-9994-2-5

VENCES, M.; THOMAS, M.; BONETT, R. M. & VEITES, D. R. **Deciphering amphibians diversity through DNA barcoding: chances and challenges.** *Philosophical transactions of the Royal Society B*. 360,1859-1868. DOI: 10.1098/rstb.2005.1717. 2005b.

WALKER, M.; WACHLEVSKI, M.; NOGUEIRA-COSTA, P.; GARCIA, P. C. A. & HADDAD, C. F. B. **A new species of *Fritziana* Mello-Leitão 1937 (Amphibia: Anura: Hemiphractidae) from the Atlantic Forest, Brazil.** *Herpetologica*. Vol. 74, n°. 4, pp. 329-341. 2018.

WATTERS, J. L.; CUMMINGS, S. T.; FLANAGAN, R. L. & SILER, C. D. **Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach.** *Zootaxa* 4072: 477–495. 2016.

WYNN, A. & HEYER, W. R. **Do geographically widespread species of tropical amphibians exist? An estimate of genetic relatedness within the neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (Schneider 1799) (Anura Leptodactylidae).** *Tropical Zoology*. Núm. 14, vol. 2, pp. 255-285. 2001.

ZAMUDIO, K. R. & SAVAGE, W. K. **Historical isolation, range expansion, and secondary contact of two highly divergent mitochondrial lineages in spotted salamanders (*Ambystoma maculatum*)**. *Evolution*. 57 (7): 1631-1652. 2003.

ZINA, J.; SILVA, G. R.; LOEBMANN, D. & ORRICO, V. G. D. **The recognition of *Dendropsophus minusculus* (Rivero, 1971) (Hylidae, Dendropsophini) as a highly polymorphic, multi-domain distributed species**. *Braz. J. Biol.*, vol. 74, n°.3 (suppl.), p. S146-S153. 2014.

ANEXO 1

Valores de amplitude, média e desvio padrão (SD) das medidas de espécimes identificados como *D. minutus* separadas por diferentes fitofisionomias do Brasil.

| Amazônica ao norte do rio Amazonas (n=19) | | | |
|--|------------------|--------------|-----------|
| Medida | Amplitude | Média | SD |
| CRC | 19,51 – 24,16 | 21,35 | 1,38 |
| LC | 6,37 – 7,80 | 7,08 | 0,46 |
| CC | 6,67 – 8,03 | 7,26 | 0,34 |
| CCX | 10,13 – 12,97 | 11,57 | 0,75 |
| CT | 10,99 – 13,74 | 12,30 | 0,66 |
| CAB | 3,31 – 4,83 | 4,03 | 0,37 |
| DIO | 3,73 – 5,39 | 4,65 | 0,48 |
| DO | 2,35 – 2,69 | 2,56 | 0,85 |
| DOT | 0,64 – 1,24 | 0,95 | 0,19 |
| DT | 0,80 – 1,37 | 1,03 | 0,15 |
| DON | 0,90 – 1,97 | 1,63 | 0,22 |
| DIN | 1,39 – 1,98 | 1,61 | 0,14 |
| Amazônica ao sul do rio Amazonas (n=28) | | | |
| Medida | Amplitude | Média | SD |
| CRC | 19,40 – 25,27 | 22,73 | 1,84 |
| LC | 6,43 – 8,40 | 7,27 | 0,46 |
| CC | 6,37 – 8,74 | 7,33 | 0,54 |
| CCX | 10,24 – 13,89 | 12,38 | 0,97 |
| CT | 11,15 – 14,61 | 13,09 | 0,99 |
| CAB | 3,18 – 5,41 | 4,25 | 0,49 |
| DIO | 3,70 – 5,89 | 4,76 | 0,47 |
| DO | 2,21 – 3,42 | 2,53 | 0,24 |
| DOT | 0,57 – 1,63 | 0,97 | 0,26 |
| DT | 0,78 – 1,43 | 1,12 | 0,20 |
| DON | 1,33 – 2,08 | 1,66 | 0,17 |
| DIN | 1,21 – 2,29 | 1,66 | 0,28 |

| Caatinga (n=15) | | | |
|------------------------|------------------|--------------|-----------|
| Medida | Amplitude | Média | SD |
| CRC | 19,95 – 24,17 | 22,07 | 1,37 |
| LC | 5,98 – 7,73 | 6,80 | 0,52 |
| CC | 6,12 – 7,61 | 6,77 | 0,43 |
| CCX | 10,42 – 13,24 | 11,61 | 0,93 |
| CT | 10,79 – 14,15 | 12,28 | 1,01 |
| CAB | 2,77 – 5,32 | 3,72 | 0,53 |
| DIO | 3,89 – 6,18 | 4,65 | 0,52 |
| DO | 1,89 – 2,66 | 2,26 | 0,21 |
| DOT | 0,38 – 0,95 | 0,72 | 0,16 |
| DT | 0,81 – 1,71 | 1,15 | 0,24 |
| DON | 1,14 – 2,04 | 1,52 | 0,23 |
| DIN | 1,24 – 2,21 | 1,67 | 0,26 |
| Cerrado (n=41) | | | |
| Medida | Amplitude | Média | SD |
| CRC | 18,37 – 25,83 | 22,32 | 1,88 |
| LC | 5,20 – 8,10 | 6,60 | 0,70 |
| CC | 5,82 – 7,88 | 6,77 | 0,49 |
| CCX | 9,34 – 14,05 | 11,86 | 1,11 |
| CT | 10,41 – 15,17 | 12,55 | 1,00 |
| CAB | 2,94 – 4,85 | 3,86 | 0,45 |
| DIO | 3,90 – 5,40 | 4,60 | 0,37 |
| DO | 1,71 – 2,90 | 2,28 | 0,27 |
| DOT | 0,48 – 0,97 | 0,72 | 0,13 |
| DT | 0,68 – 1,62 | 1,12 | 0,19 |
| DON | 1,05 – 2,03 | 1,48 | 0,24 |
| DIN | 1,05 – 2,15 | 1,52 | 0,24 |

| Mata Atlântica (n=87) | | | |
|--|------------------|--------------|-----------|
| Medida | Amplitude | Média | SD |
| CRC | 18,21 – 24,17 | 20,86 | 1,37 |
| LC | 5,34 – 7,54 | 6,34 | 0,46 |
| CC | 5,66 – 7,72 | 6,56 | 0,43 |
| CCX | 8,21 – 13,20 | 11,00 | 0,88 |
| CT | 9,76 – 13,81 | 11,65 | 0,91 |
| CAB | 2,57 – 4,82 | 3,81 | 0,40 |
| DIO | 3,58 – 5,32 | 4,46 | 0,39 |
| DO | 1,24 – 2,69 | 2,23 | 0,21 |
| DOT | 0,32 – 1,20 | 0,73 | 0,16 |
| DT | 0,57 – 1,37 | 0,97 | 0,15 |
| DON | 0,76 – 2,07 | 1,48 | 0,22 |
| DIN | 0,95 – 2,00 | 1,49 | 0,22 |
| Mata Atlântica – Localidade tipo (n=16) | | | |
| Medida | Amplitude | Média | SD |
| CRC | 18,49 – 22,92 | 20,60 | 3,21 |
| LC | 5,29 – 6,92 | 6,41 | 0,40 |
| CC | 6,07 – 7,11 | 6,70 | 0,31 |
| CCX | 9,54 – 12,04 | 10,77 | 0,66 |
| CT | 10,26 – 12,47 | 11,28 | 0,52 |
| CAB | 3,04 – 4,32 | 3,81 | 0,31 |
| DIO | 3,90 – 5,15 | 4,48 | 0,35 |
| DO | 1,71 – 2,52 | 2,16 | 0,21 |
| DOT | 0,48 – 1,05 | 0,79 | 0,14 |
| DT | 0,85 – 1,24 | 1,05 | 0,12 |
| DON | 1,14 – 1,89 | 1,48 | 0,18 |
| DIN | 1,43 – 1,78 | 1,59 | 0,12 |

| Pampa (n=50) | | | |
|---------------------|------------------|--------------|-----------|
| Medida | Amplitude | Média | SD |
| CRC | 18,88 – 23,85 | 21,22 | 1,23 |
| LC | 5,15 – 7,16 | 6,02 | 0,40 |
| CC | 5,84 – 7,42 | 6,59 | 0,33 |
| CCX | 9,54 – 12,67 | 11,15 | 0,70 |
| CT | 10,50 – 13,33 | 11,91 | 0,65 |
| CAB | 2,76 – 4,68 | 3,62 | 0,39 |
| DIO | 3,39 – 5,24 | 4,34 | 0,43 |
| DO | 1,84 – 2,61 | 2,07 | 0,17 |
| DOT | 0,42 – 0,98 | 0,68 | 0,12 |
| DT | 0,57 – 1,50 | 1,02 | 0,16 |
| DON | 1,21 – 1,86 | 1,59 | 0,14 |
| DIN | 1,22 – 1,87 | 1,59 | 0,15 |

ANEXO 2

Correlação entre as variáveis morfométricas medidas em adultos machos de *Dendropsophus minutus* comparando as populações de diferentes fitofisionomias, com os dois primeiros componentes da Análise de Componentes Principais (PCA) correspondente à Figura 5 (pág. 34).

| Medida | Eixo 1 | Eixo 2 |
|---|---------|----------|
| Comprimento rostro-cloacal | 0,08596 | 0,3467 |
| Largura da cabeça | 0,3195 | 0,1852 |
| Comprimento da cabeça | 0,2306 | 0,04013 |
| Comprimento da coxa | 0,1671 | 0,3616 |
| Comprimento da tíbia | 0,1622 | 0,3525 |
| Comprimento do antebraço | 0,2544 | -0,01423 |
| Distância interorbital | 0,1365 | 0,1424 |
| Diâmetro do olho | 0,3969 | 0,02862 |
| Distância entre o olho e o tímpano | 0,6988 | -0,4286 |
| Diâmetro do tímpano | 0,08153 | 0,6092 |
| Distância entre o olho e a narina | 0,191 | -0,02384 |
| Distância internasal | 0,1037 | 0,1101 |
| Autovalor | 6,98462 | 1,42308 |
| Porcentagem da variação | 73,78% | 15,35% |

ANEXO 3

Correlação entre as variáveis morfométricas medidas em adultos machos de *Dendropsophus minutus* com os dois primeiros componentes da Análise de Componentes Principais (PCA) correspondente à Figura 7 (pág. 41), comparando populações de diferentes padrões de colorido dorsal: formas “minuta”, “bivittata” e “sem padrão”.

| Medida | Eixo 1 | Eixo 2 |
|---|---------|----------|
| Comprimento rostro-cloacal | 0,1517 | 0,184 |
| Largura da cabeça | 0,26 | 0,1046 |
| Comprimento da cabeça | 0,1917 | 0,142 |
| Comprimento da coxa | 0,2096 | 0,2181 |
| Comprimento da tíbia | 0,2148 | 0,2002 |
| Comprimento do antebraço | 0,2214 | 0,148 |
| Distância interorbital | 0,186 | 0,1173 |
| Diâmetro do olho | 0,2304 | 0,1214 |
| Distância entre o olho e o tímpano | 0,7247 | -0,6114 |
| Diâmetro do tímpano | 0,1616 | 0,5633 |
| Distância entre o olho e a narina | 0,2279 | 0,1976 |
| Distância internasal | 0,2065 | 0,2585 |
| Autovalor | 1,40144 | 0,827889 |
| Porcentagem da variação | 37,05% | 21,88% |

ANEXO 4

Correlação entre as variáveis morfométricas medidas em adultos machos de *Dendropsophus minutus* com os dois primeiros componentes da Análise de Componentes Principais (PCA) correspondente à Figura 8 (pág. 42), comparando populações dos padrões de colorido dorsal das formas “minuta” e “bivittata”.

| Medida | Eixo 1 | Eixo 2 |
|---|---------|----------|
| Comprimento rostro-cloacal | 0,1331 | 0,1987 |
| Largura da cabeça | 0,236 | 0,1324 |
| Comprimento da cabeça | 0,1656 | 0,1693 |
| Comprimento da coxa | 0,1856 | 0,234 |
| Comprimento da tíbia | 0,1958 | 0,2203 |
| Comprimento do antebraço | 0,1714 | 0,1629 |
| Distância interorbital | 0,187 | 0,1392 |
| Diâmetro do olho | 0,213 | 0,1505 |
| Distância entre o olho e o tímpano | 0,8003 | -0,5136 |
| Diâmetro do tímpano | 0,1016 | 0,5809 |
| Distância entre o olho e a narina | 0,1845 | 0,2009 |
| Distância internasal | 0,1783 | 0,3177 |
| Autovalor | 1,29819 | 0,796519 |
| Porcentagem da variação | 36,40% | 22,33% |

MATERIAL SUPLEMENTAR I

Material Examinado: Espécimes identificados como *Dendropsophus minutus* analisados neste trabalho. Apresentados pela ordem dos domínios fitogeográficos: região Amazônica, ao norte do rio Amazonas (AM1), região Amazônica, ao sul do rio Amazonas (AM2), Caatinga (CA), Cerrado (CE), Mata Atlântica (MA), localidade tipo da espécie (MALT) e Pampa (PP). “Ind.”: coleção e número de tombo do indivíduo. “Est.”: estado político da cidade de coleta do indivíduo. “DomFit”: domínio fitogeográfico correspondente. “M1”: análise morfométrica do espécime, onde “X” corresponde ao indivíduo morfometricamente analisado; e o símbolo “□” não foi incluído nas análises estatísticas. “M2”: análise morfológica do indivíduo, correspondente ao padrão de coloração dorsal, onde “X” corresponde ao espécime analisado. “M3”: análise molecular do indivíduo, onde “X” corresponde ao fragmento de gene mitocondrial 16S aqui analisado e “G” corresponde às sequências moleculares disponibilizadas por Gehara et al. (2014).

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|---------------------------|---------------------------|-----|--------|---------------|--|----|----|----|
| UFAM CZPB-AA447 | Manaus | AM | AM1 | 27-28.i.2012 | K. M. Silva, D. O. Telles & L. Magrini | X | X | - |
| UFAM CZPB-AA451 | Manaus | AM | AM1 | 27-28.i.2012 | K. M. Silva, D. O. Telles & L. Magrini | X | X | - |
| SH52 | Campus UFAM, Manaus | AM | AM1 | 11-12.iv.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo & R. R. R. Zamora | □ | X | X |
| SH53 | Campus UFAM, Manaus | AM | AM1 | 11-12.iv.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo & R. R. R. Zamora | X | X | X |
| SH54 | Campus UFAM, Manaus | AM | AM | 11-12.iv.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo & R. R. R. Zamora | □ | X | X |
| UFAM123 (CTGA542) | Santa Isabel do Rio Negro | AM | AM1 | 05.iv.2012 | A. Almeida, D. Oliveira, O. Pereira, L. Frazão-Luiz, M. Gordo, R. Guevara & V. T. Carvalho | X | X | - |
| UFAM109 (CTGN534) | Santa Isabel do Rio Negro | AM | AM1 | 05.iv.2012 | A. Almeida, D. Oliveira, O. Pereira, L. Frazão-Luiz, M. Gordo, R. Guevara & V. T. Carvalho | X | X | - |
| UFAM111 (CTGAN552) | Santa Isabel do Rio Negro | AM | AM1 | 05.iv.2012 | A. Almeida, D. Oliveira, O. Pereira, L. Frazão-Luiz, M. Gordo, R. Guevara & V. T. Carvalho | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|-------------------------------|-------------------------------------|-----|--------|-------------|--|----|----|----|
| UFAM124 (CTGAN642) | Santa Isabel do Rio Negro | AM | AM1 | 02.iv.2012 | A. Almeida, D. Oliveira, O. Pereira, L. Frazão-Luiz, M. Gordo, R. Guevara & V. T. Carvalho | X | X | - |
| UFAM119 (CTGAN597) | Santa Isabel do Rio Negro | AM | AM1 | 01.iv.2012 | A. Almeida, D. Oliveira, O. Pereira, L. Frazão-Luiz, M. Gordo, R. Guevara & V. T. Carvalho | X | X | - |
| UFAM112 (CTGAN606) | Santa Isabel do Rio Negro | AM | AM1 | 01.iv.2012 | A. Almeida, D. Oliveira, O. Pereira, L. Frazão-Luiz, M. Gordo, R. Guevara & V. T. Carvalho | X | X | - |
| UFAM105 (CTGAN539) | Santa Isabel do Rio Negro | AM | AM1 | 05.iv.2012 | A. Almeida, D. Oliveira, O. Pereira, L. Frazão-Luiz, M. Gordo, R. Guevara & V. T. Carvalho | X | X | - |
| UFAM104 (CTGAN587) | Santa Isabel do Rio Negro | AM | AM1 | 01.iv.2012 | A. Almeida, D. Oliveira, O. Pereira, L. Frazão-Luiz, M. Gordo, R. Guevara & V. T. Carvalho | X | X | - |
| UFAM113 (CTGAN617) | Santa Isabel do Rio Negro | AM | AM1 | 01.iv.2012 | A. Almeida, D. Oliveira, O. Pereira, L. Frazão-Luiz, M. Gordo, R. Guevara & V. T. Carvalho | X | X | - |
| ZUEC6764 | São Gabriel da Cachoeira | AM | AM1 | 05.vi.1985 | M. Martins | X | X | - |
| ZUEC6766 | São Gabriel da Cachoeira | AM | AM1 | 05.vi.1985 | M. Martins | X | X | - |
| ZUEC18088 | Oriximiná | PA | AM1 | | L. F. Toledo | X | X | - |
| MZUSP65766 | Pacaraima, Marco de fronteira BV-8 | RR | AM1 | 11.ix.1987 | C. M. Carvalho | X | X | - |
| MZUSP67345 | Santa Maria do Boiaçu, Rorainópolis | RR | AM1 | 24.vii.1990 | Vanzo | X | X | - |
| MZUSP67346 | Santa Maria do Boiaçu, Rorainópolis | RR | AM1 | 24.vii.1990 | Vanzo | X | X | - |
| MZUSP66003 | Igarapé Cocal, Tepequém | RR | AM1 | 14.vii.1987 | C. M. Carvalho | X | X | - |
| IPIXUNA - UFAM209 | Tapauá, Ipixuna | AM | AM2 | 24.x.2013 | A. P. de Almeida, V. T. de Carvalho & R. R. R. Zamora | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|--------------------------|------------------------------------|-----|--------|------------------|---|----|----|----|
| IPIXUNA - UFAM401 | Tapauá, Ipixuna | AM | AM2 | 24.x.2013 | A. P. de Almeida, V. T. de Carvalho & R. R. R. Zamora | X | X | - |
| IPIXUNA - UFAM270 | Tapauá, Ipixuna | AM | AM2 | 24.x.2013 | A. P. de Almeida, V. T. de Carvalho & R. R. R. Zamora | X | X | - |
| IPIXUNA - UFAM273 | Tapauá, Ipixuna | AM | AM2 | 24.x.2013 | A. P. de Almeida, V. T. de Carvalho & R. R. R. Zamora | X | X | - |
| IPIXUNA - UFAM269 | Tapauá, Ipixuna | AM | AM2 | 24.x.2013 | A. P. de Almeida, V. T. de Carvalho & R. R. R. Zamora | X | X | - |
| IPIXUNA - UFAM274 | Tapauá, Ipixuna | AM | AM2 | 24.x.2013 | A. P. de Almeida, V. T. de Carvalho & R. R. R. Zamora | X | X | - |
| IPIXUNA - UFAM225 | Tapauá, Ipixuna | AM | AM2 | 24.x.2013 | A. P. de Almeida, V. T. de Carvalho & R. R. R. Zamora | X | X | - |
| UFMG1021 | São Luis | MA | AM2 | v.2008 | C. Canedo & I. Nunes | - | X | - |
| ZUEC15117 | São Luis | MA | AM2 | | G. V. Andrade | X | X | - |
| ZUEC15118 | São Luis | MA | AM2 | | G. V. Andrade | X | X | - |
| CFBH21560 | Aripuanã | MT | AM2 | 27.xi.2008 | H. M. Oyamaguchi | X | X | X |
| MZUSP80623 | Aripuanã | MT | AM2 | 06-11.xi.1996 | M. Rodrigues | X | X | - |
| MZUSP80626 | Aripuanã | MT | AM2 | 06-11.xi.1996 | M. Rodrigues | X | X | - |
| MZUSP80628 | Aripuanã | MT | AM2 | 06-11.xi.1996 | M. Rodrigues | X | X | - |
| MZUSP49551 | Diauarum, Parque Indígena do Xingu | MT | AM2 | 2.xi-18.xii.1973 | G. R. Kloss | X | X | - |
| MZUSP83681 | Gaúcha do Norte | MT | AM2 | 27.iv-11.v.1997 | M. Rodrigues | X | - | - |
| MZUSP83682 | Gaúcha do Norte | MT | AM2 | 27.iv-11.v.1997 | M. Rodrigues | X | X | - |
| CFBH24954 | Itanhangá | MT | AM2 | 12.xi.2009 | H. Oyamaguchi & D. Pinheiro | X | X | - |
| CFBH21532 | Paranaíta | MT | AM2 | 11.xi.2008 | H. M. Oyamaguchi & E. Oliveira | X | X | G |
| CFBH21530 | Paranaíta | MT | AM2 | 11.xi.2008 | H. M. Oyamaguchi & E. Oliveira | X | X | G |
| CFBH25168 | Porto dos Gaúchos | MT | AM2 | 05.xii.2009 | H. Oyamaguchi & Tainá | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|-------------|----------------------------------|-----|--------|----------------|---|----|----|----|
| ZUEC18102 | Vila Bela da Santíssima Trindade | MT | AM2 | | | X | X | - |
| ZUEC14976 | Jacareanga | PA | AM2 | 10-21.ii.2009 | L. F. Toledo, N. R. da Silva, O. Araújo & I. Prates | X | X | - |
| ZUEC14975 | Jacareanga | PA | AM2 | 10-21.ii.2009 | L. F. Toledo, N. R. da Silva, O. Araújo & I. Prates | X | X | - |
| ZUEC14977 | Jacareanga | PA | AM2 | 10-21.ii.2009 | L. F. Toledo, N. R. da Silva, O. Araújo & I. Prates | X | - | - |
| CFBH377 | Marabá | PA | AM2 | vii.1993 | C. F. B. Haddad | X | X | - |
| MZUSP56035 | Parque Rio Tapajós | PA | AM2 | 21.i.1979 | R. I. Crombie | X | - | - |
| MZUSP56041 | Parque Rio Tapajós | PA | AM2 | 21.i.1979 | R. I. Crombie | X | X | - |
| MZUSP110797 | Andaraí | BA | CA | 18-23.xi.1968 | Werner, F. M. Oliveira & B. D. Silva | X | X | - |
| MZUSP110801 | Andaraí | BA | CA | 18-23.xi.1968 | Werner, F. M. Oliveira & B. D. Silva | X | X | - |
| MZUSP110813 | Andaraí | BA | CA | 18-23.xi.1968 | Werner, F. M. Oliveira & B. D. Silva | X | X | - |
| CFBH33949 | Caetitê | BA | CA | 01-07.xii.2012 | S. Serrano Filho | X | X | X |
| MZUSP38835 | Campo Formoso | BA | CA | 11-14.v.1973 | ABC-MZUSP, O. L. Peixoto det | X | X | - |
| ZUEC15150 | Chapada Diamantina | BA | CA | | | X | X | - |
| MZUSP117906 | Maracás | BA | CA | xi.1965 | F. M. Oliveira & Werner | X | X | - |
| UFMG6094 | Pindobaçu | BA | CA | 11.xii.2010 | F. S. F. Leite | X | X | - |
| CFBH30135 | Palmeiras | BA | CA | 17.xi.2011 | M. T. C. Thomé, F. Brusquetti, K. Zamudio & H. Greene | X | X | - |
| MZUSP92017 | Pacoti | CE | CA | 7.x.1998 | M. Rodrigues | X | X | - |
| MZUSP92018 | Pacoti | CE | CA | 7.x.1998 | M. Rodrigues | X | X | G |
| CFBH29463 | Tianguá | CE | CA | 15.iv.2004 | Sem registro | X | - | - |
| CFBH29470 | Tianguá | CE | CA | 15.iv.2004 | Sem registro | X | - | - |
| CFBH31560 | Piripiri | PI | CA | 1.iii.2012 | M. T. C.; Thomé e F. Brusquetti | X | X | - |
| CFBH31559 | Piripiri | PI | CA | 1.iii.2012 | M. T. C.; Thomé e F. Brusquetti | X | - | - |
| MZUSP143994 | São Desidério | BA | CE | 15.i.2008 | P. H. Valdujo, R. Recoder, M. M. Vasconcelos | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|--------------------|------------------------|-----|--------|--------------|---|----|----|----|
| CFBH6778 | Alto Paraíso de Goiás | GO | CE | 16.xii.2003 | C. F. B. Haddad, R. P. Bastos, L. F. Toledo, L. Guimarães & L. Lima | X | X | G |
| MZUSP20984 | Aragarças | GO | CE | 2.ii.1955 | M. Alvarenga | X | X | - |
| CFBH29212 | Campo Limpo de Goiás | GO | CE | 11.vi.2011 | F. E. Barbo & D. Gennari | X | - | - |
| MZUSP141542 | Mambaí | GO | CE | 11.ix.2006 | Naturae Consultoria Ambiental | X | X | - |
| MZUSP141543 | Mambaí | GO | CE | 11.ix.2006 | Naturae Consultoria Ambiental | X | X | - |
| MZUSP141544 | Mambaí | GO | CE | 11.ix.2006 | Naturae Consultoria Ambiental | X | X | - |
| CFBH20159 | Quirinópolis | GO | CE | 14.viii.2008 | M. T. C. Thomé & M. Rodrigues | X | X | G |
| MZUSP 6647 | Santa Rita do Araguaia | GO | CE | 2.iii.1989 | J. P. Caldwell | X | X | - |
| MZUSP120760 | Uruaçu | GO | CE | 13.i.1970 | Werner, L. A. Deutsch & M. Carollo | X | X | - |
| MZUSP120764 | Uruaçu | GO | CE | 13.i.1970 | Werner, L. A. Deutsch & M. Carollo | X | X | - |
| MZUSP145144 | Carolina | MA | CE | 6.xi.2003 | D. Pavan e F. Curcio | □ | - | G |
| UFMG8408 | Buritizeiro | MG | CE | 10.iii.2011 | F. Leal & H. T. Andrade | X | X | - |
| MZUSP77003 | Serra do Cipó | MG | CE | 1-3.xi.1972 | W. C. A. Bokermann | X | X | - |
| MZUSP77006 | Serra do Cipó | MG | CE | 1-3.xi.1972 | W. C. A. Bokermann | X | X | - |
| UFMG12197 | Três Marias | MG | CE | 12.iii.2012 | B. F. Zaidan & B. Fehlberg | X | X | - |
| MZUSP128281 | Bodoquena | MS | CE | 6.v.2002 | C. Nogueira | X | X | - |
| MZUSP128282 | Bodoquena | MS | CE | 6.v.2002 | C. Nogueira | X | X | - |
| CFBH14236 | Bonito | MS | CE | 29.xii.2006 | K. Zamudio, C. P. A. Prado, F. Zara, M. C. Duryea, H. Greene | X | X | G |
| ZUEC12413 | Serra da Bodoquena | MS | CE | | M. Uetanebaro | □ | X | - |
| CFBH25016 | Barra do Garças | MT | CE | 06.i.2010 | H. Oyamaguchi & E. Oliveira | X | X | - |
| CFBH25026 | Barra dos Garças | MT | CE | 06.i.2010 | H. Oyamaguchi & E. Oliveira | X | - | - |
| CFBH25028 | Barra dos Garças | MT | CE | 06.i.2010 | H. Oyamaguchi & E. Oliveira | X | X | - |
| CFBH24924 | Brianorte | MT | CE | 28.xi.2009 | H. Oyamaguchi | X | X | X |
| MNRJ59491 | Chapada dos Guimarães | MT | CE | vii.1983 | G. W. Nunam | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|--------------------|--------------------------------|-----|--------|---------------|---|----|----|----|
| CFBH109 | Chapada dos Guimarães | MT | CE | 12.x.1982 | A. J. Cardoso, C. F. B. Haddad & F. J. C. Dalponte | X | X | - |
| CFBH111 | Chapada dos Guimarães | MT | CE | 12.x.1982 | A. J. Cardoso, C. F. B. Haddad & F. J. C. Dalponte | X | X | - |
| CFBH112 | Chapada dos Guimarães | MT | CE | 12.x.1982 | A. J. Cardoso, C. F. B. Haddad & F. J. C. Dalponte | X | X | - |
| CFBH21494 | Chapada dos Guimarães | MT | CE | 23.x.2008 | H. M. Oyamaguchi | X | X | G |
| CFBH21507 | Chapada dos Guimarães | MT | CE | 22.x.2008 | H. M. Oyamaguchi | X | X | G |
| MZUSP151969 | Juína | MT | CE | 03-04.xi.2008 | JGP Consultoria Ambiental | X | - | - |
| CFBH24859 | Nobres | MT | CE | 14.xi.2009 | H. Oyamaguchi & E. Oliveira | X | - | X |
| CFBH21760 | Pq. Nac. Chapada dos Guimarães | MT | CE | 23.x.2008 | H. Oyamaguchi | X | X | X |
| CFBH24966 | Tapurah | MT | CE | 13.xii.2009 | H. Oyamaguchi & D. Pinheiro | X | X | - |
| CFBH6535 | Itirapina | SP | CE | 01.xii.2003 | C. P. A. Prado & L. F. Toledo | X | X | G |
| CFBH5599 | Ribeirão Preto | SP | CE | 21.xii.1993 | J. C. Guix | - | X | - |
| CFBH6938 | Rio Claro | SP | CE | 09.xii.2003 | C. P. A. Prado, L. O. M. Giasson, M. Gridi-Papp, L. F. Toledo & J. G. R. Giovanelli | - | X | G |
| CFBH6940 | Rio Claro | SP | CE | 09.xii.2003 | C. P. A. Prado, L. O. M. Giasson, M. Gridi-Papp, L. F. Toledo & J. G. R. Giovanelli | X | - | G |
| SH01 | Rio Claro | SP | CE | 25.xi.2015 | A. C. C. Lourenço, N. Pupin, D. Baêta, A. F. Sabbag, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | X | X |
| SH02 | Rio Claro | SP | CE | 25.xi.2015 | A. C. C. Lourenço, N. Pupin, D. Baêta, A. F. Sabbag, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | X | X |
| SH03 | Rio Claro | SP | CE | 03.xii.2015 | A. C. C. Lourenço, A. C. Melo, A. F. Sabbag, N. Pupin & S. H. M. Melo | X | X | X |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|-------------|------------------------|-----|--------|--------------------|---|----|----|----|
| SH05 | Rio Claro | SP | CE | 03.xii.2015 | A. C. C. Lourenço, A. C. Melo, A. F. Sabbag, N. Pupin & S. H. M. Melo | - | - | X |
| SH06 | São Carlos | SP | CE | 09.xii.2015 | R. M. Costa; A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | X | X |
| MZUSP127004 | Babaçulândia | TO | CE | 9- 23.xii.2001 | D. Pavan e F. Curcio | X | X | - |
| MZUSP127005 | Babaçulândia | TO | CE | 9- 23.xii.2001 | D. Pavan e F. Curcio | X | X | - |
| CFBH10284 | Caseara | TO | CE | 17- 20.xii.2005 | C. A. Brasileiro e M. Dixo | X | X | G |
| MZUSP144462 | Filadélfia | TO | CE | 6.ii.2004 | M. T. Rodrigues | X | X | - |
| MNRJ43922 | Goiatins | TO | CE | 28.xi.2006 | B. V. S. Pimenta e L. R. Malagoli | X | X | G |
| MZUSP90163 | Palmas | TO | CE | 11- 27.iii.1998 | M. E. V. Calleffo | X | X | - |
| MZUSP144461 | Palmeirante | TO | CE | 8.ii.2004 | D. Pavan e D. Prioli | X | X | G |
| MZUSP145140 | Palmeiras do Tocantins | TO | CE | 9.ii.2004 | D. Pavan e F. Curcio | X | X | - |
| MZUSP145142 | Palmeiras do Tocantins | TO | CE | 9.ii.2004 | D. Pavan e F. Curcio | X | X | - |
| MZUSP111716 | Paraná | TO | CE | 26.v- 9.vi.2000 | M. T. Rodrigues | X | X | - |
| MZUSP111718 | Paraná | TO | CE | 26.v- 9.vi.2000 | M. T. Rodrigues | X | X | G |
| MZUSP111717 | Paraná | TO | CE | 26.v- 9.vi.2000 | M. T. Rodrigues | X | X | - |
| CFBH28526 | Wanderlândia | TO | CE | 10.ix.2007 | M. T. C. Thomé e T. M. Castellar | □ | X | X |
| CFBH18567 | Campo Alegre | AL | MA | 21.iv.2007 | I. C. S. Tiburcio e colaboradores | X | - | G |
| MNRJ46514 | Boa Nova | BA | MA | 20.xi.2006 | C. Canedo e F. Falcão | X | X | - |
| MNRJ46513 | Boa Nova | BA | MA | 20.xi.2006 | C. Canedo e F. Falcão | X | X | G |
| CFBH27964 | Entre Rios | BA | MA | 24.i.2011 | T. Brunes, M. Gonçalves & N. Rodrigues | □ | - | X |
| CFBH38010 | Jequié | BA | MA | 02.ix.2014 | J. Zina & G. Novaes | X | - | X |
| CFBH36865 | Porto Seguro | BA | MA | 16.iv.2014 | D. Baeta, A. C. C. Lourenço, D. Moraes e A. F. Sabbag | X | X | - |
| CFBH36870 | Porto Seguro | BA | MA | 16.iv.2014 | D. Baeta, A. C. C. Lourenço, D. Moraes e A. F. Sabbag | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|--------------------|-----------------------------------|-----|--------|---------------------|---|----|----|----|
| MNRJ42641 | Porto Seguro | BA | MA | 15- 18.viii.2006 | B. V. S. Pimenta, C. A. G. Cruz e I. Nunes | X | X | G |
| MZUSP142826 | Cariacica | ES | MA | 10.xii.2008 | R. A. Guerra-Fuentes | X | X | - |
| MZUSP142827 | Cariacica | ES | MA | 10.xii.2008 | R. A. Guerra-Fuentes | X | X | - |
| MZUSP142831 | Cariacica | ES | MA | 10.xii.2008 | R. A. Guerra-Fuentes | X | X | - |
| MZUSP142832 | Cariacica | ES | MA | 10.xii.2008 | R. A. Guerra-Fuentes | X | X | - |
| CFBH9691 | Conceição da Barra | ES | MA | 01.ix.2001 | J. L. Gasparini & A. P. Almeida | X | X | - |
| ZUEC23607 | Ibitirama | ES | MA | | C. Z. Torres, G. A. Alves, L. F. Toledo, C. Haddad & J. Gasparini | X | X | - |
| ZUEC23608 | Ibitirama | ES | MA | | C. Z. Torres, G. A. Alves, L. F. Toledo, C. Haddad & J. Gasparini | X | X | - |
| ZUEC23609 | Ibitirama | ES | MA | | C. Z. Torres, G. A. Alves, L. F. Toledo, C. Haddad & J. Gasparini | X | X | - |
| CFBH33344 | Pedra Azul | ES | MA | 03- 05.xii.2006 | P. Peloso & R. Montesinos | X | X | - |
| MZUSP107974 | Sooretama | ES | MA | 2- 11.xi.1964 | C. A. C. Seabra, F. M. Oliveira & W. C. A. Bokermann | X | X | - |
| MZUSP108001 | Sooretama | ES | MA | 2- 11.xi.1964 | C. A. C. Seabra, F. M. Oliveira & W. C. A. Bokermann | X | X | - |
| MZUSP108014 | Sooretama | ES | MA | 2- 11.xi.1964 | C. A. C. Seabra, F. M. Oliveira & W. C. A. Bokermann | X | X | - |
| MZUSP108030 | Sooretama | ES | MA | 2- 11.xi.1964 | C. A. C. Seabra, F. M. Oliveira & W. C. A. Bokermann | X | X | - |
| CFBH38107 | Catas Altas | MG | MA | 1.iv.2015 | C. F. B. Haddad | X | X | X |
| MNRJ55036 | Catas Altas | MG | MA | 27.x.2008 | J. P. Pombal Jr. et al. | X | X | G |
| MZUSP92570 | Couto de Magalhães de Minas | MG | MA | 11.xii.1968 | F. M. Oliveira | X | X | - |
| MZUSP92571 | Couto de Magalhães de Minas | MG | MA | 11.xii.1968 | F. M. Oliveira | X | X | - |
| UFMG13162 | Ipaba | MG | MA | 24.iii.2012 | R. S. Viana & E. T. Silva | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|--------------------|----------------------------------|-----|--------|--------------------|--|----|----|----|
| MNRJ40176 | Lima Duarte | MG | MA | 17- 22.x.2005 | C.A. G. Cruz, R. N. Feio, R. Murta, E. F. Oliveira & J. S. Dayrell | X | X | - |
| MNRJ40175 | Lima Duarte | MG | MA | 17- 22.x.2005 | C.A. G. Cruz, R. N. Feio, R. Murta, E. F. Oliveira & J. S. Dayrell | X | X | G |
| UFMG16191 | Mariana | MG | MA | 8.xii.2011 | C. F. Oliveira | X | X | - |
| MZUSP57930 | Parque Nacional do Caparaó | MG | MA | 1- 2.xii.1980 | Heyer | X | X | - |
| MZUSP57937 | Parque Nacional do Caparaó | MG | MA | 1- 2.xii.1980 | Heyer | X | X | - |
| MZUSP133825 | Parque Nacional do Caparaó | MG | MA | 22- 31.x.2004 | M. T. Rodrigues et al. | □ | - | G |
| MZUSP110616 | Pedra Azul | MG | MA | xi.1971 | F. M. Oliveira | X | X | - |
| MZUSP110617 | Pedra Azul | MG | MA | xi.1971 | F. M. Oliveira | X | X | - |
| CFBH35878 | Poços de Caldas | MG | MA | 1.xi.2013 | D. Baêta, V. D. Orrico, P. Pinheiro, R. Gaiga | X | X | - |
| SH34 | Pouso Alegre | MG | MA | 01.xii.2016 | S. H. M. Melo, André C. Melo & R. M. Costa | X | X | X |
| SH35 | Pouso Alegre | MG | MA | 01.xii.2016 | S. H. M. Melo, André C. Melo & R. M. Costa | X | X | X |
| SH36 | Pouso Alegre | MG | MA | 01.xii.2016 | S. H. M. Melo, André C. Melo & R. M. Costa | X | X | X |
| SH37 | Pouso Alegre | MG | MA | 01.xii.2016 | S. H. M. Melo, André C. Melo & R. M. Costa | X | X | X |
| SH38 | Pouso Alegre | MG | MA | 01.xii.2016 | S. H. M. Melo, André C. Melo & R. M. Costa | X | X | X |
| SH39 | Pouso Alegre | MG | MA | 01.xii.2016 | S. H. M. Melo, André C. Melo & R. M. Costa | X | X | X |
| MZUSP142232 | Conceição do Mato Dentro | MG | MA | 21- 22.iii.2009 | R. A. Guerra-Fuentes & T. H. Condés | X | X | - |
| ZUEC16963 | Viçosa | MG | MA | | C. Targuela | X | X | - |
| MZUSP59385 | Mamanguape | PB | MA | 1.xi.1982 | M. Rodrigues | X | X | - |
| MZUSP63149 | Serra dos Cavalos, Caruaru | PE | MA | 3.x.1985 | M. Rodrigues | X | X | - |
| CFBH27467 | Adrianópolis | PR | MA | 01.xii.2010 | T. Brunes, J. P. Cortes; M. Gehara | X | X | - |
| MNRJ74063 | Balsa Nova | PR | MA | 07- 08.iii.2011 | M. W. Cardoso, A. C. C. Lourenço & J. Fratani | X | X | G |
| MNRJ74064 | Balsa Nova | PR | MA | 07- 08.iii.2011 | M. W. Cardoso, A. C. C. Lourenço & J. Fratani | X | X | G |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|------------------|--------------------------------------|-----|--------|------------------|---|----|----|----|
| MNRJ74069 | Balsa Nova | PR | MA | 07-08.iii.2011 | M. W. Cardoso, A. C. C. Lourenço & J. Fratani | X | X | - |
| CFBH27225 | Ortigueira | PR | MA | 14.xii.2007 | M. T. C. Thomé, T. Brunes e K. Zamudio | X | X | - |
| CFBH8427 | Tijucas do Sul | PR | MA | 15.ii.2005 | L. F. Toledo, C. P. A. Prado, J. Alexandrino e R. Lingnau | X | X | G |
| MZUSP7966 | Angra dos Reis | RJ | MA | det. iii.1951 | W. C. A. Bokermann | X | - | - |
| MNRJ50828 | Duque de Caxias | RJ | MA | 23-24.i.2008 | L. N. Weber | X | X | G |
| MNRJ71988 | Duque de Caxias | RJ | MA | 28.x.2010 | R. O. L. Salles | X | X | G |
| MNRJ71989 | Duque de Caxias | RJ | MA | 28.x.2010 | R. O. L. Salles | X | X | G |
| CFBH27423 | Nova Friburgo e Cachoeiras de Macacu | RJ | MALT | 23.xi.2010 | C. Canedo, T. Brunes, M. Gehara & M. T. C. Thomé | X | X | X |
| CFBH27424 | Nova Friburgo e Cachoeiras de Macacu | RJ | MALT | 23.xi.2010 | C. Canedo, T. Brunes, M. Gehara & M. T. C. Thomé | X | X | X |
| CFBH27425 | Nova Friburgo e Cachoeiras de Macacu | RJ | MALT | 23.xi.2010 | C. Canedo, T. Brunes, M. Gehara & M. T. C. Thomé | □ | X | X |
| SH40 | Nova Friburgo | RJ | MALT | 21.xi.2017 | S. H. M. Melo & A. C. Melo | X | X | X |
| SH51 | Nova Friburgo | RJ | MALT | 08.iii.2018 | S. H. M. Melo & A. C. Melo | X | X | X |
| MNRJ77141 | Nova Friburgo | RJ | MALT | 11.xi.2011 | P. Pombal Jr. e E. C. Pombal | X | X | G |
| MNRJ77142 | Nova Friburgo | RJ | MALT | 11.xi.2011 | P. Pombal Jr. e E. C. Pombal | X | X | G |
| MNRJ77143 | Nova Friburgo | RJ | MALT | 11.xi.2011 | P. Pombal Jr. e E. C. Pombal | X | X | G |
| MNRJ77144 | Nova Friburgo | RJ | MALT | 11.xi.2011 | P. Pombal Jr. e E. C. Pombal | X | X | - |
| MNRJ51875 | Nova Friburgo | RJ | MALT | 17.iii.2008 | C. C. Siqueira, D. Vrcibradir e T. A. Dorigo | X | X | - |
| MNRJ32200 | Nova Friburgo | RJ | MALT | 21.x.2000 | H. de Niemeyer e U. Caramaschi | X | X | - |
| MNRJ32201 | Nova Friburgo | RJ | MALT | 21.x.2000 | H. de Niemeyer e U. Caramaschi | X | X | - |
| ZUEC5212 | Nova Friburgo | RJ | MALT | | A. J. Cardoso & C. F. B. Haddad | X | X | - |
| ZUEC5214 | Nova Friburgo | RJ | MALT | | A. J. Cardoso & C. F. B. Haddad | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|------------|-------------------------------|-----|--------|---------------|--|----|----|----|
| MNRJ73092 | Resende | RJ | MA | 19.xii.2010 | M. Targino, P. Nogueira e D. Vrcibradic | X | X | G |
| CFBH28101 | Sta Maria Madalena | RJ | MALT | 23.ii.2011 | M. T. C. Thomé, F. A. Brusquetti & T. H. Condez | X | X | X |
| CFBH27334 | Sta Maria Madalena | RJ | MALT | 19.xi.2010 | C. Canedo, T. Brunes, M. Gehara & M. T. C. Thomé | X | X | X |
| CFBH27335 | Sta Maria Madalena | RJ | MALT | 19.xi.2010 | C. Canedo, T. Brunes, M. Gehara & M. T. C. Thomé | X | X | X |
| MZUSP53487 | Teresópolis (Alto do Soberbo) | RJ | MA | 21.xii.1977 | MZUSP-USNM Heyer | X | X | - |
| MZUSP53488 | Teresópolis (Alto do Soberbo) | RJ | MA | 21.xii.1977 | MZUSP-USNM Heyer | X | X | - |
| MZUSP53490 | Teresópolis (Alto do Soberbo) | RJ | MA | 21.xii.1977 | MZUSP-USNM Heyer | X | X | - |
| CFBH27214 | Bento Gonçalves | RS | MA | 10.xii.2007 | M. T. C. Thomé, T. Brunes & K. Zamudio | X | X | - |
| UFMG10023 | Cambará do Sul | RS | MA | 6.i.2012 | P. D. P. Pinheiro & P. P. G. Taucce | X | X | - |
| UFMG10019 | Cambará do Sul | RS | MA | 6.i.2012 | P. D. P. Pinheiro & P. P. G. Taucce | X | X | - |
| CFBH8519 | São Francisco de Paula | RS | MA | 18.ii.2005 | L. F. Toledo, C. P. A. Prado, J. Alexandrinho & R. Lingnau | X | X | G |
| CFBH11019 | Bom Jardim da Serra | SC | MA | 29.i.2006 | M. Martins, E. Lucas e K. Zamudio | X | X | G |
| CFBH11021 | Bom Jardim da Serra | SC | MA | 29.i.2006 | M. Martins, E. Lucas e K. Zamudio | X | X | G |
| CFBH8552 | Lages | SC | MA | 20.ii.2005 | L. F. Toledo, C. P. A. Prado, J. Alexandrinho e R. Lingnau | X | X | G |
| ZUEC4842 | Lages | SC | MA | | A. J. Cardoso, G. V. Andrade & C. F. B. Haddad | X | X | - |
| MNRJ44390 | Lages | SC | MA | 29.xii.1949 | B. Lutz e J. Venancio | X | X | - |
| MNRJ44391 | Lages | SC | MA | 29.xii.1949 | B. Lutz e J. Venancio | X | X | - |
| MNRJ44392 | Lages | SC | MA | 29.xii.1949 | B. Lutz e J. Venancio | X | X | - |
| MNRJ72560 | Rancho Queimado | SC | MA | 14-15.xi.2010 | D. Baêta, A. C. C. Lourenço e M. W. Cardoso | X | X | G |
| CFBH8492 | Treviso | SC | MA | 08.iv.2005 | L. F. Toledo | X | X | G |
| MZUSP37953 | Areia Branca | SE | MA | 22-24.iv.1973 | ABC-MZUSP; Crombie det | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|-------------------|---------------------------|-----|--------|--------------------|---|----|----|----|
| MZUSP37967 | Areia Branca | SE | MA | 22- 24.iv.1973 | ABC-MZUSP; Crombie det | X | X | - |
| MZUSP37981 | Areia Branca | SE | MA | 22- 24.iv.1973 | ABC-MZUSP; Crombie det | X | X | - |
| MZUSP37983 | Areia Branca | SE | MA | 22- 24.iv.1973 | ABC-MZUSP; Crombie det | X | X | - |
| MZUSP37984 | Areia Branca | SE | MA | 22- 24.iv.1973 | ABC-MZUSP; Crombie det | X | X | - |
| CFBH32848 | Bertioga | SP | MA | 22.i.2012 | A. M. Luiz | X | X | - |
| CFBH20870 | Biritiba Mirim | SP | MA | 19- 21.x.2008 | H. Narimatsu, R. Taketani & J. Junior | X | X | G |
| CFBH14708 | Guapiara | SP | MA | 04.iii.2007 | L. O. M. Giasson, Donizete & Valdir | X | X | G |
| CFBH8096 | Iporanga | SP | MA | 15.ix.2003 | C. P. A. Prado, L. F. Toledo & L. O. M. Giasson | X | X | - |
| SH07 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | X | X |
| SH08 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | X | X |
| SH09 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | X | X |
| SH10 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | X | X |
| SH11 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | - | X |
| SH13 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | - | - | X |
| SH14 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | X | X |
| SH15 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | - | X |
| SH16 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | - | X |
| SH20 | Itatiba | SP | MA | 29.i.2016 | A. F. Sabbag, D. Baêta, A. C. Melo & S. H. M. Melo | X | - | X |
| CFBH30865 | São José do Barreiro | SP | MA | 17- 22.xii.2011 | C. F. B. Haddad, A. M. Haddad & A. M. Haddad | X | X | X |
| MNRJ55573 | São José do Barreiro | SP | MA | 06.xii.2008 | C. Canedo | X | X | - |
| MNRJ55572 | São José do Barreiro | SP | MA | 06.xii.2008 | C. Canedo | X | X | G |
| CFBH8258 | São Luis do Paraitinga | SP | MA | 09.ii.2005 | L. O. M. Giasson & J. G. R. Giovaneli | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|-------------------|-----------------|-----|--------|------------------------|---|----|----|----|
| CFBH17628 | Ubatuba | SP | MA | 27.xii.2004 | C. F. B. Haddad, K. R. Zamudio, H. Greene & J. Wiens | X | X | G |
| CFBH17635 | Ubatuba | SP | MA | 27.xii.2004 | C. F. B. Haddad, K. R. Zamudio, H. Greene & J. Wiens | □ | - | G |
| CFBH17637 | Ubatuba | SP | MA | 27.xii.2004 | C. F. B. Haddad, K. R. Zamudio, H. Greene & J. Wiens | □ | - | G |
| CFBH17638 | Ubatuba | SP | MA | 27.xii.2004 | C. F. B. Haddad, K. R. Zamudio, H. Greene & J. Wiens | □ | - | G |
| CFBH35181 | Ubatuba | SP | MA | 12- 13.ix.1992 | J. P. Pombal Jr & C. F. B. Haddad | □ | X | - |
| ZUFSM10345 | Alegrete | RS | PP | 18- 19.x.2014 | S. S. Alves | X | X | - |
| ZUFSM11628 | Alegrete | RS | PP | 01- 02.xi.2015 | S. S. Alves | X | X | - |
| ZUFSM3275 | Caçapava do Sul | RS | PP | 30.xi – 03.xii.2002 | F. Maragno | X | X | - |
| ZUFSM3276 | Caçapava do Sul | RS | PP | 30.xi – 03.xii.2002 | F. Maragno | X | X | - |
| ZUFSM3440 | Caçapava do Sul | RS | PP | 08.ii.2003 | P. Dorneles | X | X | - |
| ZUFSM3452 | Caçapava do Sul | RS | PP | 10.ii.2003 | P. Dorneles | X | X | - |
| ZUFSM3453 | Caçapava do Sul | RS | PP | 10.ii.2003 | P. Dorneles | X | X | - |
| ZUFSM3970 | Cerro Largo | RS | PP | 02.v.2004 | Daniel Gressler | X | X | - |
| ZUFSM3974 | Cerro Largo | RS | PP | 02.v.2004 | Daniel Gressler | X | X | - |
| ZUFSM3138 | Dom Feliciano | RS | PP | 26.x- 01.xi.2002 | G. Winck | X | X | - |
| ZUFSM4250 | Dom Feliciano | RS | PP | xi.2002 | F. Feltrin | X | X | - |
| ZUFSM4251 | Dom Feliciano | RS | PP | xi.2002 | F. Feltrin | X | X | - |
| ZUFSM4254 | Dom Feliciano | RS | PP | xi.2002 | F. Feltrin | X | X | - |
| MZUSP16054 | Guaíba | RS | PP | 15.iii.1953 | E. W. Grumann, T. Lema & L. Backup | X | - | - |
| ZUFSM10590 | Jaguarão | RS | PP | 13- 14.xii.2014 | S. S. Alves | X | X | - |
| ZUFSM10610 | Jaguarão | RS | PP | 13- 14.xii.2014 | S. S. Alves | X | X | - |
| ZUFSM10621 | Jaguarão | RS | PP | 15- 16.xii.2014 | S. S. Alves | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|-------------|-------------------------------------|-----|--------|-------------------|--|----|----|----|
| ZUFSM2469 | Manoel Viana | RS | PP | 25.x.2000 | L. Giasson | X | X | - |
| ZUFSM2476 | Manoel Viana | RS | PP | 25.x.2000 | L. Giasson | X | X | - |
| MZUSP110607 | Passo do Vigário, Viamão | RS | PP | ix.1959 | T. Lema | X | X | - |
| ZUFSM11937 | Piratini | RS | PP | 27- 28.xi.2016 | S. S. Alves | X | X | - |
| MNRJ70602 | Porto Alegre | RS | PP | 04.ix.1978 | ; I. I. Burmeister & C. M. Carvalho | X | X | - |
| MNRJ70603 | Porto Alegre | RS | PP | 04.ix.1975 | I. I. Burmeister & C. M. Carvalho | X | X | - |
| MZUSP110604 | Porto Alegre | RS | PP | 30.viii.1955 | T. Lema & L. Backup | X | X | - |
| MZUSP110605 | Porto Alegre | RS | PP | 30.viii.1955 | T. Lema & L. Backup | X | X | - |
| MZUSP110606 | Porto Alegre | RS | PP | 30.viii.1955 | T. Lema & L. Backup | X | X | - |
| SH42 | Campus UFSM, Santa Maria | RS | PP | 10.i.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo, M. Malleret & S. S. Alves | X | X | X |
| SH43 | Campus UFSM, Santa Maria | RS | PP | 10.i.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo, M. Malleret & S. S. Alves | □ | X | X |
| SH44 | Campus UFSM, Santa Maria | RS | PP | 10.i.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo, M. Malleret & S. S. Alves | X | X | X |
| SH45 | Campus UFSM, Santa Maria | RS | PP | 10.i.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo, M. Malleret & S. S. Alves | X | X | - |
| SH46 | Campus UFSM, Santa Maria | RS | PP | 10.i.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo, M. Malleret & S. S. Alves | X | X | X |
| SH47 | Distrito Boca do Monte, Santa Maria | RS | PP | 11.i.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo, M. Malleret & S. S. Alves | X | X | X |
| SH48 | Distrito Boca do Monte, Santa Maria | RS | PP | 11.i.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo, M. Malleret & S. S. Alves | X | X | X |
| SH49 | Distrito Boca do Monte, Santa Maria | RS | PP | 11.i.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo, M. Malleret & S. S. Alves | X | X | X |
| SH50 | Distrito Boca do Monte, Santa Maria | RS | PP | 11.i.2018 | S. H. M. Melo, A. C. Melo, M. Malleret & S. S. Alves | X | X | X |
| ZUFSM10493 | Santana da Boa Vista | RS | PP | 11- 12.xi.2014 | S. S. Alves | X | X | - |
| ZUFSM11661 | Santana da Boa Vista | RS | PP | 13- 14.xi.2015 | S. S. Alves | X | X | - |

| Ind. | Cidade | Est | DomFit | Data | Coletor(es) | M1 | M2 | M3 |
|-------------|---|-----|--------|--------------------|----------------|----|----|----|
| ZUFSM11663 | Santana da Boa Vista | RS | PP | 13- 14.xi.2015 | S. S. Alves | X | X | - |
| ZUFSM4758 | São Gabriel | RS | PP | 25.ii.2009 | M. Silveira | X | X | - |
| ZUFSM4822 | São Gabriel | RS | PP | 24- 27.xi.2009 | A. M. Bolzan | X | X | - |
| ZUFSM10433 | São Gabriel | RS | PP | 06- 07.xi.2014 | S. S. Alves | X | X | - |
| ZUFSM11994 | São Gabriel | RS | PP | 06- 07.xii.2016 | S. S. Alves | X | X | - |
| MZUSP110608 | São Leopoldo | RS | PP | iii.1964 | C. M. Valle | X | X | - |
| MZUSP110609 | São Leopoldo | RS | PP | iii.1964 | C. M. Valle | X | X | - |
| MZUSP110610 | São Leopoldo | RS | PP | iii.1964 | C. M. Valle | X | X | - |
| MZUSP110611 | São Leopoldo | RS | PP | iii.1964 | C. M. Valle | X | X | - |
| MZUSP110612 | São Leopoldo | RS | PP | iii.1964 | C. M. Valle | X | X | - |
| ZUFSM9962 | São Sepé | RS | PP | 01.ix.2012 | V. F. Oliveira | X | X | - |
| MZUSP117946 | Sapucaia do Sul | RS | PP | 27.x.1971 | W. Bokermann | X | X | - |
| ZUFSM11862 | Tavares | RS | PP | 17- 18.xi.2016 | S. S. Alves | X | X | - |
| ZUFSM11877 | Tavares | RS | PP | 19- 20.xi.2016 | S. S. Alves | X | X | - |
| MZUSP14151 | Saint Benedict, near St. Joseph, Trinidad | - | - | 21.ix.1953 | C. Gans | □ | X | - |

MATERIAL SUPLEMENTAR II

Dados de números de acesso GenBank das sequências do fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA.

| Espécie | 16S GenBank |
|--------------------------------------|--------------------|
| <i>Xenohyla truncata</i> | AY843775.1 |
| <i>Dendropsophus cf. stingi</i> | KJ817824 |
| <i>Dendropsophus cf. goughi</i> | KJ833237 |
| <i>Dendropsophus cf. xapuriensis</i> | KJ833244 |
| <i>Dendropsophus cf. aperomeus</i> | KJ933551 |
| <i>Dendropsophus cf. delarivai</i> | KJ933559 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | AY549345 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833032 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833033 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833034 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833035 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833036 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833037 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833038 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833039 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833040 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833041 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833044 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833045 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833046 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833047 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833048 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833049 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833050 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833051 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833052 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833053 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833054 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833055 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833056 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833057 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833058 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833059 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833060 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833061 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833062 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833063 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833064 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833065 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833066 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833067 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833068 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833069 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833070 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833071 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833072 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833073 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833074 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833075 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833076 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833077 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833078 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833079 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833080 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833081 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833082 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833083 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833084 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833085 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833086 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833087 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833088 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833089 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833090 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833091 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833092 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833093 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833094 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833095 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833096 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833097 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833098 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833099 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833100 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833101 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833102 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833103 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833104 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833105 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833106 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833107 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833108 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833109 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833110 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833111 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833112 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833113 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833114 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833115 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833116 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833117 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833118 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833119 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833120 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833121 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833122 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833123 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833124 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833125 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833126 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833127 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833128 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833129 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833130 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833131 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833132 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833133 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833134 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833135 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833136 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833137 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833138 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833139 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833140 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833141 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833142 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833143 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833144 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833145 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833146 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833147 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833148 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833149 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833150 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833151 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833152 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833153 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833154 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833155 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833156 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833157 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833158 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833159 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833160 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833161 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833162 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833163 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833164 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833165 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833166 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833167 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833168 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833169 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833170 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833171 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833172 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833173 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833174 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833175 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833176 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833177 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833178 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833179 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833180 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833181 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833182 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833183 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833184 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833185 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833186 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833187 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833188 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833189 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833190 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833191 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833192 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833193 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833194 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833195 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833196 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833197 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833198 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833199 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833200 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833201 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833202 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833203 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833204 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833205 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833206 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833207 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833208 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833209 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833210 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833211 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833212 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833213 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833214 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833215 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833216 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833217 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833218 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833219 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833220 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833221 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833222 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833223 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833224 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833225 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833226 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833227 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833228 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833229 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833230 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833231 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833232 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833233 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833234 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833235 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833245 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833246 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833247 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833248 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833249 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833250 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833251 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833252 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833253 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833254 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833255 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833256 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833257 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833258 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833259 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833260 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833261 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833262 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833263 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833264 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833265 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833266 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833267 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833284 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833285 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833286 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833287 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833288 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833289 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833290 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833291 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833292 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833293 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833294 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833295 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833296 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833297 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833298 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833299 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833307 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833308 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833309 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833310 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833311 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833312 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833313 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833314 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833315 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833316 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833317 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833318 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833319 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833320 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833321 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833322 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833323 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833324 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833325 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833326 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833327 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833328 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ833329 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933568 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933569 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933570 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933571 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933572 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933573 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933574 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933575 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933576 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933577 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933578 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933579 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933580 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933581 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933582 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933583 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933584 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933585 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933586 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933587 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933588 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933589 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933590 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933591 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933592 |

| Espécie | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933593 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933594 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933595 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933596 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933597 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933598 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933599 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933600 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933601 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933602 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933603 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933604 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933605 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933606 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933607 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933608 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933609 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933610 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933611 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933612 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933613 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933614 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933615 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933616 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933617 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933618 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933619 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ933620 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940035 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940036 |

| Espèce | 16S GenBank |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940037 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940038 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940039 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940040 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940041 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940042 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940043 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940044 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940045 |
| <i>Dendropsophus minutus</i> | KJ940046 |

MATERIAL SUPLEMENTAR III

Árvore filogenética dos espécimes de *Dendropsophus minutus* com base no fragmento de gene mitocondrial 16S rRNA e Máxima Verossimilhança. Ramos com o símbolo “//” foram horizontalmente encurtados e não seguem a escala. Sequências moleculares analisadas em Gehara et al. (2014) adicionadas às sequências analisadas no presente trabalho. Números dos nós representam probabilidades posteriores. Ramos colapsados representam os agrupamentos de linhagens: G1 (linhagens 19 a 20); G2 (linhagem 21); G3 (linhagem 22); G4 (linhagens de 23 a 28); G5 (linhagens de 29 a 34); G6 (linhagens 35 e 36); G7 (linhagem 37); G8 (linhagem 38); G9 (linhagem 39); G10 (linhagem 40); e G11 (linhagens de 41 a 43).

