

Programa de Pós-graduação em Diversidade Animal
Universidade Federal da Bahia

Euvaldo Marciano Santos Silva Júnior

**Estudo taxonômico de *Hypsiboas semilineatus*
(Anura: Hylidae) com base em parâmetros
morfológicos, acústicos e de distribuição
geográfica**

Salvador

2012

Programa de Pós-graduação em Diversidade Animal
Universidade Federal da Bahia

Euvaldo Marciano Santos Silva Júnior

**Estudo taxonômico de *Hypsiboas semilineatus*
(Anura: Hylidae) com base em parâmetros
morfológicos, acústicos e de distribuição
geográfica**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Federal da
Bahia para a obtenção do Título de
Mestre pelo Programa de Pós-
Graduação em Diversidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo
Felgueiras Napoli

Salvador

2012

Ficha Catalográfica

Marciano-Jr, Euvaldo

Estudo taxonômico de *Hypsiboas semilineatus* (Anura: Hylidae)
com base em parâmetros morfológicos, acústicos e de distribuição
geográfica

61 pp.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia da Universidade
Federal da Bahia. Departamento de Zoologia. Programa de Pós-Graduação
em Diversidade Animal.

1. Taxonomia integrativa 2. Variação clinal 3. Hylidae. I.

Universidade Federal da Bahia. Instituto de Biologia. Departamento de
Zoologia. Programa de Pós-Graduação em Diversidade Animal.



Programa de Pós-Graduação em **DIVERSIDADE ANIMAL**

Instituto de Biologia
Universidade Federal da Bahia
<http://www.diversidadeanimal.bio.ufba.br>



ATA DA SESSÃO PÚBLICA DO COLEGIADO DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Título da Dissertação **“Estudo Taxonômico de *Hypsiboas semilineatus* (Anura: Hylidae) com base em parâmetros morfológicos, acústicos e de distribuição geográfica.”**

Mestrando: Euvaldo Marciano Santos Silva Júnior
Orientador: Dr. Marcelo Felgueiras Napoli

De acordo com o regimento geral da UFBA e com o regimento interno deste programa de pós-graduação, foram iniciados os trabalhos da Comissão Examinadora, composta pelos professores **Dr. Marcelo Felgueiras Napoli (presidente)**, **Dr. Ulisses Caramashi** e **Dra. Clarissa Coimbra Canedo**, às 09:00 horas do dia 12 de agosto de 2011.

O mestrando fez a apresentação oral da dissertação durante 40 minutos. Após o encerramento das arguições, às 11:50 horas, a Comissão Examinadora pronunciou-se pela sua Aprovação, conforme parecer em anexo.

Esta Ata será assinada pelos membros da Comissão Examinadora e deste Colegiado, para compor o processo de emissão do diploma.

Salvador, 12 de agosto de 2011.

COMISSÃO EXAMINADORA

Membro Dr. Marcelo Felgueiras Napoli
Instituição: Universidade Federal da Bahia

Membro: Dr. Ulisses Caramashi
Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro

Membro: Dra. Clarissa Coimbra Canedo
Instituição: Universidade Estadual de São Paulo

COLEGIADO

Dedicatória

À minha avó Marinalva Cardoso (*in memoriam*).

Agradecimentos

Agradeço, antes de tudo, a Deus por ter permitido que eu encontrasse nessa vida apenas pessoas especiais, que de alguma forma contribuíram com meu desenvolvimento como pessoa.

Aos meus pais, Eivaldo Marciano e Míriam Bandeira por simplesmente terem sido minha base durante toda minha vida, por terem me dado todo o suporte sempre que precisei sem questionarem minhas decisões, por me darem o conforto de um lar completo de coisas realmente importantes: amor, paz, amizade, confiança, ética e todo tipo de princípio moral que todo homem de bem deve dispor.

Às minhas irmãs, Geysa e Fabrícia por fazerem parte de minha vida, acrescentando somente coisas boas e, é claro, por terem me suportado em todos os meus momentos de “destemperança”. Aos meus tios, tias e primas pela constante torcida em meu favor.

Ao Prof. Dr. Marcelo Felgueiras Napoli por ter me passado um pouco de seu conhecimento sobre os anuros durante os dois anos que passei em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. Mirco Solé por ter aberto as portas desse mundo fascinante dos anfíbios para mim, fornecendo base e recorrente suporte nesta área. Pela confiança e amizade a mim destinadas.

Ao Prof. Dr. Gilson E. Iack-Ximenes pela imensa paciência, atenção, amizade e pelos excelentes conselhos e pela solicitude constante sempre que precisei.

Às minhas amigas “uesquianas” Marlla, por ter compartilhado comigo muitos dos bons momentos que vivi ao longo desses 6 anos que nos conhecemos, pela amizade que foi crescendo aos poucos e hoje já sinto falta até de ser explorado por ela, que arrumou novos amigos de infância! À Pit (Camila Primitivo) pela amizade que também só aumentou durante nossa jornada em Salvador; por ter experienciado junto comigo todas as expectativas desse passo que demos, desde a seleção no mestrado até agora e por ter aberto as portas de sua casa (à quem devo agradecer também à sua mãe, D. Suélia e seu irmão Tiago Primitivo) para me receber no primeiro ano dessa empreitada. À Maria, pela sempre boa companhia nos “reguizinhos” que frequentamos ou fazíamos, pela “bolsa estatística” fornecida algumas vezes e por saber ter levado nossa amizade pra frente mesmo quando eu, no auge da minha famosa destemperança, pra não dizer brutalidade (rs), andei falando o que não devia. Enfim, à essas três garotas que permitiram que essa temporada em Salvador rendesse bons frutos, mantendo nosso espírito de prazer em pesquisar apesar das

adversidades aqui encontradas.

Não posso deixar de agradecer também a outras duas amigas de importância ímpar em minha vida: Chu e Felis! Não consigo dissociar essas figuras, pois são para mim uma única entidade chamada amizade. Muito obrigado por existirem em minha vida e por terem me ensinado a rir do nada, de bobagens extremas, do “búfalo bill” (Wolly tá nessa também), pelas conversas sobre tudo, pelas brigas por tudo, pela concepção e morte de Pietro (kkkk), pelas tardes, noites, dias, madrugadas de comilança e cia! Enfim, pela vida que vale a pena ser vivida.

Aos amigos que fiz no AMPHIBIA: Aribio (Ariane) pela delicadeza que lhe é peculiar, mesmo quando está zangada e por ser tão fantástica quanto ela é! As meninas “super” do laboratório como super Deise e seu humor refinado, super Kuen (Thaís) e seus caracóis, que quando pisca, o cabelo cresce de uma lado e a super Mor, super Patrícia, que dispensa comentários! À ilustríssima Camardeli (Milena), que sempre que nos agracia com a honra de sua presença, deixa as tarde mais animadas e menos produtivas! Ao Rafael pela não menos importante contribuição em deixar os dias no laboratório menos produtivos (no bom sentido, diga-se de passagem) e pelos comentários sempre pertinentes sobre as meninas. À Joice B... por ter compartilhado bons momentos quando dividimos o ap e nos bons e velhos campos da vida. À global, digna de novela das 8, Manú (don tolki tieikiroc, tieikiroc, tieiliroc reime nau: ou ou ou ou! rs) pela sua alegria de escala imensurável, pelas horas de gargalhadas e conversas jogadas fora nas pausas para o cafezinho! À Joice Ruggeri pela companhia mais frequente pelos melhores butecos de Salvador (rs), pela simpatia e jeito distraído que me fez admirá-la nos primeiros contatos que tivemos.

Ao Lucas, Robson e Camila por colaborarem para a manutenção da harmonia deste laboratório, mesmo quando se recusam a manter a ordem!

Aos pesquisadores Axel Kwet, Flora Juncá, Itamar A. Martins, Iuri R. Dias, Rodrigo Lingnau, Albertina Lima através de Luciana Erdtmann, Willian Duellman e Rafael Márquez que prontamente disponibilizaram registros acústicos quando solicitei e aos curadores e responsáveis técnicos dos seguintes museus que me receberam e/ou disponibilizaram material zoológico durante a fase de coleta de dados: CFBH (Coleção Célio Fernando Baptista Haddad, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo); MNRJ (Museu Nacional, Rio de Janeiro); MZUSP (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo); UFBA (Museu de Zoologia da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia), MZUFV (Museu de Zoologia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais) e MZUESC (Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Santa Cruz).

Índice

Introdução geral	10
Histórico Taxonômico	10
Capítulo 1. Estudo taxonômico de <i>Hypsiboas semilineatus</i> (Spix, 1824) (Anura, Hylidae) com base em parâmetros morfológicos, acústicos e de distribuição geográfica	15
1.1. Introdução	16
1.2. Materiais e métodos	
1.2.1. Espécimes examinados	18
1.2.2. Caracteres analisados	19
1.2.3. Procedimentos de análise	20
1.3. Resultados	22
1.4. Discussão	27
1.5. Agradecimentos	35
1.6. Referências bibliográficas	36
1.7. Legendas	43
1.8. Apêndice	45
1.9. Figuras	48
1.10. Tabelas	55
Conclusões gerais	57
Referências bibliográficas	58

RESUMO

Hypsiboas semilineatus é uma perereca de médio porte distribuída ao longo de quase toda extensão da Floresta Atlântica brasileira, desde o Estado de Pernambuco até o Estado de Santa Catarina. A espécie foi sucintamente descrita por Spix em 1824 como uma variedade de *Hyla geographica* (= *Hypsiboas geographicus*). Desde então vários autores subsequentes apresentaram descrições de novas espécies baseada em juvenis que posteriormente foram corretamente identificados como de *H. semilineatus*. Isso deveu-se ao fato de a morfologia dos juvenis de *H. semilineatus* ser muito diferente da dos adultos, o que resultou em um histórico taxonômico confuso envolvendo a identidade da espécie. Um século mais tarde, *H. semilineatus* foi sinonimizada com *H. geographicus* e, em seguida, separadas novamente. A revalidação de *H. semilineatus* como espécie plena foi baseada em cinco caracteres qualitativos e não houve apresentação de estatística associadas às diferenças em relação a *H. geographicus*. Desta maneira este trabalho visou (1) re-descrever a espécie de ocorrência atlântica, (2) caracterizar seus padrões de variação ao longo do gradiente latitudinal no qual se distribui e (3) testar a hipótese nula de que a espécie representa um complexo de espécies ao longo de sua distribuição. A abordagem utilizada para o tratamento dos dados foi a da taxonomia integrativa com a utilização de diferentes linhas de evidência (morfometria, bioacústica e padrão de desenho/colorido) para delimitar espécie. Em uma fase posterior, foram analisadas as demais espécies do grupo de *H. semilineatus* a fim de apresentar as relações morfométricas entre as mesmas e subsidiar suas diagnoses.

Palavras-chave: *Hypsiboas*, taxonomia integrativa, morfometria, bioacústica, variação geográfica.

ABSTRACT

Hypsiboas semilineatus is a medium size species widespread through Brazilian Atlantic Forest, from Pernambuco State, Northeastern Brazil to Santa Catarina State, South Brazil. The species was briefly described by Spix in 1824 and treated as *Hyla geographica* (= *Hypsiboas semilineatus*) variety. Since its description other authors described some species based on juveniles of *H. semilineatus* because its distinct morphology in relation to adults, resulting in a confuse taxonomic historical. The species was posteriously sinonimized to *H. geographicus* and decades after splitted again. The revalidation of *H. semilineatus* as full species was based on five qualitative characters and there was no statistics associated to differences in relation to *H. geographicus*. Thus, this work aimed to (1) redescribe *H. semilineatus*, (2) characterize its patterns of variation through Atlantic Forest and (3) test null hypothesis that *H. semilineatus* represents a complex of species. The approach used in this study to delimitation of species was the integrative taxonomy, utilizing three different evidence guidelines (morphometry, bio-acoustic and color pattern). Further analysis were made considering another species of the *H. semilineatus* species group, to present the morphometrics relationships among them and to improve its diagnosis.

Key-words: *Hypsiboas*, integrative taxonomy, morphometry, bio-acoustic, geographical variation.

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil apresenta a maior riqueza de anfíbios anuros do mundo (SBH, 2011). No entanto, pouco dessa riqueza é de fato conhecida e muitas espécies ainda precisam de estudos taxonômicos robustos, uma vez que são tratadas como complexos de espécies de difícil caracterização. De acordo com Heyer & Reid (2003) espécies nominais que ocupam extensos espaços ecológicos ou geográficos podem representar complexos de espécies. Um fator que pode contribuir para a formação destes complexos é a delimitação de espécies baseada apenas em evidências morfológicas (Funk *et al.*, 2008). O anuro *Hypsiboas semilineatus* (Spix, 1824) pode ser incluído dentre estes táxons, dada sua ampla distribuição na Floresta Atlântica aliada a um histórico taxonômico confuso (ver Frost, 2011). Esta espécie foi sucintamente descrita por Spix (1824) como variedade atlântica de *Hyla geographica* (*Hyla geographica* var. sive. *semilineata*), cuja distribuição é associada ao bioma amazônico. Bokermann (1966b) considerou *H. semilineata* sinônimo júnior de *H. geographica*. Duas décadas depois, Silveira & Caramaschi (1989) revalidaram *H. semilineata* com base em características morfológicas que a distinguiu de *H. geographica*, mas de maneira sumária, o que inviabiliza a pronta distinção de espécimes associados às mesmas. Como consequência, a identidade de *H. semilineatus* não foi satisfatoriamente esclarecida, o que apontou para a necessidade de estudo que testasse a validade taxonômica de *H. semilineatus* e/ou fornecesse características diagnósticas precisas para este táxon. O presente trabalho teve por objetivos testar as hipóteses de que (1) todas as as populações de *Hypsiboas semilineatus* amostradas ao longo da Floresta Atlântica pertencem à uma mesma linhagem evolutiva (espécie) e (2) que *H. semilineatus* corresponde a espécie distinta de *H. geographicus*.

RESUMO HISTÓRICO

SPIX (1824) descreveu *Hyla geographica* do Município de Teffé, Estado do Amazonas e uma variedade ocorrente no sudeste do Brasil, a qual chamou de “*Hyla geographica* var. sive *semilineata*”, cujo holótipo depositado no Zoologische Staatssammlung München sob o tombo ZSM (40/0) foi considerado perdido por Hoogmoed & Gruber (1983), informação confirmada por Glaw & Franzen (2006). A localidade-tipo de *H. geographica* var. sive *semilineata* foi apresentada de maneira ampla como “Província Rio de Janeiro, Brasil”.

REINHARDT & LÜTKEN (1862) descreveram *Hyla spectrum*, posteriormente vinculada à *Hyla geographica*, a partir de juvenil coletado provavelmente no Estado de Minas Gerais, Brasil, e, portanto, possivelmente referente a *Hyla semilineata*.

COPE (1867) descreveu *Centrotelma criptomelan* a partir de indivíduo com padrão melânico coletado no Estado da Bahia, Brasil. Esta espécie foi sinonimizada à *Hyla geographica*. No entanto, como o espécime foi coletado no Estado da Bahia, se tratava provavelmente de um indivíduo de *Hyla semilineata*.

PETERS (1870) descreveu uma nova espécie, mais tarde associada à *Hyla geographica*, a partir de juvenil coletado no sul do Brasil e o transferiu para o novo gênero *Cophomantis* sob a nova combinação de *Cophomantis punctillata*. Definiu “S[an]ta Catharina (Brasiliens), Brasil” como localidade-tipo da espécie. Mais uma vez, a descrição provavelmente referia-se a *Hyla semilineata*.



Figura 1: Foto do holótipo de *Cophomantis punctillata*.

PETERS (1872) voltou atrás em relação à validade do gênero *Cophomantis* e sinonimizou *Hyla geographica* à *Hyla maxima*. *Hyla maxima* restringe-se à Bacia Amazônica e, neste caso, a sinonímia seria a *Hyla geographica* e não à *Hyla var. semilineata*, já que esta última limitar-se-ia em sua distribuição geográfica ao litoral atlântico, neste caso, ao litoral de Santa Catarina. No entanto, *Cophomantis punctillata* foi descrita para Santa Catarina.

BOKERMANN (1966) sugeriu como provável localidade-tipo de *Hyla semilineata* o Município do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

DUELLMAN (1973) sinonimizou *Hyla semilineata* à *Hyla geographica* integrando informações morfométricas, acústicas e de padrões de desenho de amostras populacionais oriundas da região amazônica e dos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina (Brasil). O autor não encontrou diferenças

significativas entre as populações quanto aos parâmetros mencionados.

SILVEIRA & CARAMASCHI (1989) revalidaram *Hyla semilineata* através de resumo publicado no XVI Congresso Brasileiro de Zoologia, apresentando cinco caracteres qualitativos que a diferenciariam de *H. geographica* sem apresentar qualquer estatística associada às diferenças encontradas nem o material analisado no estudo. No mesmo resumo os autores restringiram a ocorrência da espécie ao leste do Brasil.

MARQUEZ *et al.* (1993) apresentaram análise acústica das espécies de *Hyla* da Bolívia, incluindo *Hyla geographica*, mencionando a semelhança entre os cantos de anúncio das populações bolivianas desta espécie em relação à das populações da Floresta Atlântica, que foram apresentados por Duellman (1973) ainda como *H. geographica*.

D'HEURSEL & DE SÁ (1999) compararam morfologicamente caracteres larvares de *Hyla geographica* e *Hyla semilineata*, fornecendo suporte à validade dos táxons. Porém, mencionam que tanto a morfologia externa quanto características do condrocânio são idênticas nas duas espécies. Apenas caracteres da anatomia oral interna bem como o tamanho relativo das larvas em estágios equivalentes forneceram evidências de diferenças entre os táxons.

FAIVOVICH *et al.* (2005) realizaram revisão taxonômica da família Hylidae baseados principalmente em dados moleculares e propuseram a revalidação do gênero *Hypsiboas*, bem como a criação de novos gêneros e o rearranjo das espécies entre os gêneros existentes. O antigo grupo fenético de *Hyla geographica* foi considerado merofilético e *Hyla geographica* [*Hypsiboas geographicus*] passou a fazer parte, como espécie irmã de *H. semilineatus*, do grupo monofilético de *Hypsiboas semilineatus* juntamente com *H. boans*, *H. pombali*, e *H. wavrini*.

WIENS *et al.* (2010) apresentaram uma filogenia das pererecas da família Hylidae baseado em dados nucleares e mitocondriais, onde *H. semilineatus* e *H. geographicus* foram apresentados como espécies-irmãs com distância genética entre elas menor que 5% com 100% de suporte (bootstrap).

VAN SLUYS & ROCHA (2010) apontam que distribuição geográfica de *Hypsiboas*

semilineatus é limitada à Floresta Atlântica e foi observado que a espécie é muitas vezes considerada uma sub-espécie de *H. geographicus*. Quanto a *H. geographicus*, AZEVEDO-RAMOS *et al.* (2010) apontam a possibilidade de a espécie constituir um complexo de espécies e apresentam mapa de distribuição abrangendo tanto a Floresta Amazônica quanto a Floresta Atlântica.

Manuscrito para apreciação

Este capítulo apresenta o manuscrito intitulado “**Estudo taxonômico de *Hypsiboas semilineatus* (Amphibia, Anura, Hylidae) com base em parâmetros morfológicos, acústicos e de distribuição geográfica**” que se destina à submissão para publicação no periódico científico **Zootaxa**. Os resultados aqui discorridos, assim como a discussão e conclusões derivadas, decorrem do desenvolvimento da presente dissertação. Os critérios de redação e formatação seguem as normas deste periódico, os quais se encontram disponíveis na íntegra no ANEXO II desta dissertação.

Estudo taxonômico de *Hypsiboas semilineatus* (Spix, 1824) (Amphibia, Anura, Hylidae) com base em parâmetros morfológicos, acústicos e de distribuição geográfica

EUVALDO MARCIANO-JR ^{1,4} & MARCELO F. NAPOLI ^{2,3}

¹*Programa de Pós-Graduação em Diversidade Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Campus Universitário de Ondina, Rua Barão de Jeremoabo, 40170-115 Salvador, Bahia, Brazil.*

²*Museu de Zoologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Campus Universitário de Ondina, Rua Barão de Jeremoabo, 40170-115 Salvador, Bahia, Brazil. E-mail: napolim@ufba.br*

³*Associate Researcher, Departamento de Vertebrados, Museu Nacional/UFRJ, Quinta da Boa Vista, São Cristóvão, 20940-040 Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil*

⁴*Corresponding author:
euvaldo.marciano@gmail.com*

Introdução

O gênero *Hypsiboas* Wagler é composto atualmente por 84 espécies distribuídas nas Américas Central e do Sul, desde a Nicarágua até a Argentina, incluindo as ilhas de Trinidad e Tobago (Frost 2011). Este gênero foi removido da sinonímia de *Hyla* Laurenti por Faivovich *et al.* (2005) onde havia sido colocado por Duméril & Bibron (1841). Concomitante à revalidação do gênero *Hypsiboas*, baseado principalmente em caracteres moleculares, Faivovich *et al.* (2005) reconheceram como grupos monofiléticos os seguintes grupos de espécies: *Hypsiboas albopunctatus* Spix, *H. benitezi* Rivero, *H. faber* Wied-Neuwied, *H. pellucens* Werner, *H. puchellus* Duméril & Bibron, *H. punctatus* Schneider e *H. semilineatus* Spix.

O grupo de *Hypsiboas semilineatus* é formalmente constituído por cinco espécies (Faivovich *et al.* 2005): *H. boans* Linnaeus, *H. geographicus* Spix, *H. pombali* Caramaschi, Pimenta & Feio, *H. semilineatus* Spix e *H. wavrini* Parker. Anteriormente à Faivovich *et al.* (2005), *Hypsiboas boans* e *H. geographicus*, denominavam dois grupos fenéticos, porém não monofiléticos: os grupos de *Hyla boans* (= *Hypsiboas boans*) e o de *Hyla geographica* (= *Hypsiboas geographicus*). O grupo de *Hyla boans* era composto por (Caramaschi & Napoli 2004): *H. boans*, *H. crepitans* Wied-Neuwied, *H. exastis* Caramaschi & Rodrigues, *H. faber* Wied-Neuwied, *H. lundii* Burmeisteri, *H. pardalis* Spix, *H. pugnax* Schmidt, *H. rosenbergi* Boulenger e *H. wavrini*. O grupo de *Hyla geographica* reunia (Caramaschi *et al.* 2004): *Hyla calcarata* Troschel, *H. dentei* Bokermann, *H. fasciata* Günther, *H. geographica*, *H. hutchinsi* Pyburn & Hall, *H. kanaima* Goin & Woodley, *H. microderma* Pyburn, *H. picturata* Boulenger, *H. pombali*, *H. roraima* Duellman & Hoogmoed e *H. semilineata*.

O grupo fenético de *Hyla geographica* (= *Hypsiboas geographicus*) foi definido por Cochran (1955) e caracterizava as espécies de pererecas de tamanho moderado com apêndices dérmicos alongados sobre os calcanhares e membranas interdigitais reduzidas entre os dedos (Cochran & Goin 1970). Duellman (1973) apresentou caracterização mais abrangente que incluía espécies com saco vocal único, mediano e sub-gular; asperezas nupciais presentes em machos reprodutivos, ausência de pré-pólex proeminente em ambos os sexos (mas presente em algumas espécies do grupo; ver Pyburn 1977); pele do dorso lisa em ambos os sexos; apêndice calcâneo presente; tímpano grande, com ânulo timpânico evidente; prega tarsal interna presente ou fracamente desenvolvida, tubérculo metatarsal interno não modificado, palmatura variável, menos que dois terços na mão e mais da

metade no pé; pálpebra transparente ou reticulada; dorso marrom ou castanho, com faixas transversais irregulares marrom-escuras e uma estreita linha marrom médio-dorsal presente ou ausente; flancos com manchas, reticulações ou barras verticais pretas; girinos conhecidos (considerado apenas o de *Hyla geographica*) uniformemente pretos e com disco oral com duas fileiras superiores e três fileiras inferiores de dentículos córneos; canto nupcial consistindo de uma ou mais notas suaves, baixas, pouco moduladas. Este autor considerou como membros deste grupo: *Hyla calcarata*, *H. fasciata* e *H. geographica*. No ano de 2004, *Hyla pombali* [= *Hypsiboas pombali*] foi descrita e acrescentada ao grupo de *Hyla geographica* e, juntamente com *H. semilineata*, passaram a constituir as duas únicas espécies do grupo associadas à Floresta Atlântica.

Hyla semilineata (= *Hypsiboas semilineatus*) foi anedoticamente descrita por Spix como variedade de *Hyla geographica* (*Hyla geographica* var. sive *semilineata*). A “Província do Rio de Janeiro” foi estabelecida como localidade-tipo desta variedade. Desde então, a espécie foi re-descrita por diferentes autores considerando-a como espécie nova (Reinhardt & Lütken 1862; Cope 1867; Peters 1870) pelo fato de os adultos serem muito diferentes dos juvenis recém-metamorfoseados (Lutz, B. 1973). Bokermann (1966b) sugeriu que a localidade-tipo seria provavelmente o Município do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, e propôs a sinonímia com *Hyla geographica* que foi seguida por autores subsequentes (p.ex., Duellman 1973; Lutz, B. 1973).

Duas décadas após sua sinonimização, Silveira & Caramaschi (1989) propuseram, através de resumo publicado no XVI Congresso Brasileiro de Zoologia, a revalidação de *Hyla semilineata* (= *Hypsiboas semilineatus*), considerando como principais diferenças em relação a *Hyla geographica* a cabeça mais estreita, focinho mais arredondado, tímpano menor, calosidade nupcial mais desenvolvida e padrão de cor diverso. No mesmo resumo restringiram a distribuição geográfica de *Hyla semilineata* à região costeira do Brasil, desde o Estado de Alagoas até o Estado de Santa Catarina, mas observando que o limite interior da distribuição ainda não estaria definido.

Apesar de sua revalidação como espécie plena por Silveira & Caramaschi (1989), a identidade de *Hypsiboas semilineatus* não foi satisfatoriamente estabelecida.

Lingnau & Bastos (2000) apresentaram a descrição das vocalizações de anúncio e de encontro de *Hyla semilineata* (= *Hypsiboas semilineatus*) e consideraram a validade da espécie, apontando que o canto de encontro por eles descrito, é diferente dos cantos longos apresentados por Duellman (1973) para *H. geographica*. Entretanto, os resultados apresentados por Duellman (1973) se referem apenas a vocalizações de anúncio. Este

último autor admitiu a existência de vocalizações de anúncio de dois tipos: curtas e longas, sem se referir em nenhum momento a possíveis vocalizações de encontro.

A segunda conclusão a que chegaram Lingnau & Bastos (2000) acerca das vocalizações descritas, foi que existe similaridade entre as vocalizações de anúncio das duas espécies ao comparar seus resultados com aqueles publicados por Márquez *et al.* (1993) para populações de *H. geographica* da Bolívia.

O cenário descrito acima a respeito da construção da identidade de *Hypsiboas semilineatus* pode ser reflexo de um problema comum a espécies com ampla distribuição geográfica: a formação de complexos de espécies (Heyer & Reid 2003). Estudos apontam que trabalhos baseados somente em morfologia contribuem para a formação de complexos de espécies, uma vez que não conseguem detectar diferenças significantes entre espécies crípticas (Angulo & Reichle 2008; Angulo *et al.* 2003; Ron *et al.* 2004, 2005, 2006).

O uso combinado de evidências tais como morfologia, bioacústica, moleculares, entre outras, vem sendo utilizado sob a perspectiva da emergente taxonomia integrativa (Dayrat 2005; Will *et al.* 2005) para melhor delimitar espécies. Estes estudos reduzem vieses relacionados ao uso de apenas um critério de discriminação, o que pode facilitar o reconhecimento de complexos de espécies composto por espécies crípticas (Padial *et al.* 2008; Padial & De La Riva 2009).

Considerando-se o histórico taxonômico envolvendo a identidade de *Hypsiboas semilineatus*, espécie amplamente distribuída na Floresta Atlântica, observamos a necessidade de realização de estudo para esclarecer a posição taxonômica desta espécie. Dois são os objetivos deste trabalho, obedecendo-se ordem hierárquica de construção: (1) identificar e caracterizar padrões de variação morfológica (tamanho e forma corpórea), de colorido e do canto de anúncio entre as amostras disponíveis de *Hypsiboas semilineatus* ao longo da Floresta Atlântica a fim de determinar limites específicos, caso existam; (2) testar se há mais de uma linhagem (espécie) tratada sob o nome *Hypsiboas semilineatus*, tendo como hipótese alternativa que *H. semilineatus* constitui complexo de espécies.

Material e Métodos

Espécimes examinados. Foram examinados 398 espécimes adultos de *Hypsiboas semilineatus* (345 machos e 53 fêmeas) de 96 localidades, abrangendo toda a distribuição conhecida da espécie no domínio atlântico. Sessenta machos constituíram material topotípico. Adicionalmente, examinei espécimes adultos (machos e fêmeas) das espécies

que compõem o grupo monofilético de *H. semilineatus* (número de espécimes entre parêntesis): *H. boans* (45), *H. geographicus* (102), *H. pombali* (10) e *H. wavrini* (6). Esses indivíduos estão depositados nas seguintes coleções zoológicas brasileiras: AL-MN (Coleção Adolpho Lutz, Museu Nacional, Rio de Janeiro), CFBH (Coleção Célio Fernando Baptista Haddad, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo), MPEG (Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará), MNRJ (Museu Nacional, Rio de Janeiro), MZUSP (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo), MZUFV (Museu de Zoologia “João Moojen de Oliveira”, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais), UFBA (Museu de Zoologia da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia), MZUESC (Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia).

Caracteres analisados. Todos os espécimes analisados foram medidos para 15 distâncias morfométricas com auxílio de paquímetro digital (precisão de 0,01 mm). As medidas seguem Napoli (2005): CRC (comprimento rostro-cloacal), CC (comprimento da cabeça), LC (largura da cabeça), DO (diâmetro do olho), DON (distância olho-narina), DT (diâmetro do tímpano), LPS (largura da pálpebra superior), DIO (distância inter-orbital), DIN (distância internasal), DNF (distância narina-ponta do focinho), CCX (comprimento da coxa), CTB (comprimento da tíbia), CP (comprimento do pé), DD3D (diâmetro do disco do terceiro dedo), DD4A (diâmetro do disco do quarto artelho). Fórmulas palmar e plantar seguem Savage & Heyer (1967) conforme modificado por Myers & Duellman (1982).

Caracteres de coloração foram observados em espécimes de *Hypsiboas semilineatus* preservados em álcool etílico (70%), seguindo nomenclatura utilizada por Duellman (1970), Cei (1980), Heyer (1997) e Heyer *et al.* (1990). Nos espécimes que se encontravam parcialmente descolorados ou danificados foram considerados somente os padrões que se apresentavam bem nítidos. Foram analisados os seguintes caracteres: (1) manchas dorsais, (2) linha mediana dorsal, (3) superfície dorsal da coxa, (4) superfície dorsal da tíbia, (5) superfície interna da coxa, (6) mancha pós-orbital oblíqua, (7) mancha em forma de “X” no dorso, (8) faixa transversal sacral, (9) tipo de desenho nos flancos, (10) superfície ventral.

Para as análises acústicas foram examinados 186 vocalizações de anúncio de espécimes de *Hypsiboas semilineatus* provenientes de sete localidades, a saber: Municípios de Brusque, no Estado de Santa Catarina, Morretes, no Estado do Paraná, Pindamonhangaba e Piassaguera, ambas no Estado de São Paulo, Sooretama, no Estado do Espírito Santo, Catu e Mata de São João, ambas no Estado da Bahia. As gravações foram

digitalizadas com frequência de entrada de 12 kHz e resolução de 16 bits, no padrão mono. Foram aferidos seis parâmetros acústicos: número de notas, duração da nota (s), número de pulsos, taxa de repetição de pulsos (pulsos/s), taxa de repetição das notas (notas/min) e frequência dominante do canto (kHz). Os cálculos das taxas de repetição de notas e de pulsos seguiram as seguintes equações: taxa de repetição de notas (notas/min) = $60s/\text{duração da nota (s)}$; taxa de repetição de pulsos (pulsos/s) = $\text{número de pulsos}/\text{duração da nota}$ (Napoli & Pimenta 2009). As análises temporais foram realizadas no software Avisoft SAS Lab Pro para Windows (versão 4.38) e as análises espectrais foram realizadas no software Sound Ruler Acoustic Analysis (versão 0.9.6.0). Audioespectrogramas foram digitalizados em 12 kHz, com FFT (Fast Fourier Transform length) de 256 pontos, sobreposição 87,5%, frame 100%, função Flat Top. A terminologia utilizada na descrição dos cantos segue Duellman & Trueb (2004). As informações dos cantos de anúncio relativo às populações da Floresta Amazônica também foram considerados.

Procedimentos de análise. Utilizando a abordagem da taxonomia integrativa (Dayrat 2005), foram propostos grupos populacionais a partir da congruência entre dados morfológicos e acústicos. Estes conjuntos de populações foram considerados Unidades Taxonômicas Operacionais (UTOs). Para fins de análise, cada UTO representou, *a priori*, linhagem divergente que evoluiu separadamente (Padial *et al.* 2010). As análises exploratórias foram feitas utilizando-se somente amostras populacionais da Floresta Atlântica referidas como *Hypsiboas semilineatus* a fim de buscar por possíveis discriminações entre as UTOs ou evidenciar padrões espaciais de variação. As demais espécies do grupo monofilético de *H. semilineatus* foram utilizadas para comparação com *H. semilineatus*, durante a re-definição.

Desta maneira, os procedimentos seguiram as seguintes etapas:

[1.] Análise exploratória das populações utilizando dados morfológicos e acústicos. A fim de investigar o grau de variação morfológica e acústica e procurar por possíveis padrões de ordenação das amostras populacionais da Floresta Atlântica, utilizamos a Análise dos Componentes Principais (PCA). Os dados morfométricos foram submetidos a duas análises dos componentes principais: uma para analisar variações atribuídas ao tamanho do corpo e outra para aquelas atribuídas a variações na forma do corpo (“*size-free*”). A análise dos componentes principais (PCA) foi utilizada para reduzir as variáveis originais a poucos eixos que sintetizassem a variação total (McCune & Grace 2002). Nesta

análise, as variáveis originais foram transformadas em seus logaritmos naturais e calculada a matriz de variância-covariância. Autovalores e autovetores combinados às variáveis originais geraram os escores que foram projetados dentro do espaço reduzido dos componentes principais mais representativos da variação total. Os *loadings* representam a correlação entre as variáveis originais e os escores e foram usados como indicadores da magnitude de contribuição de cada variável a cada componente principal. O primeiro componente principal (PC1) pode ser considerado representante do “tamanho” por representar a maior porção da variação em uma matriz multivariada e quando é constituído de coeficientes de mesmo sinal e *loadings* de magnitude semelhantes (Humphries *et al.* 1981). Para obter variáveis indicadoras da variação da “forma” corpórea sem o efeito do “tamanho”, foi realizada outra PCA, cujos dados originais foram transformados pelo método de transformação Alométrico de Burnaby, através do software PAST (versão 2.05). Este método remove a variação paralela ao vetor que representa o tamanho (neste caso o PC1) e então reduz a dimensionalidade da variação (Rohlf & Slice 1990).

Os parâmetros acústicos foram reduzidos a eixos sintéticos através da Análise dos Componentes Principais (PCA), utilizando a Rotação Varimax (McCune & Grace 2002). Os autovetores e autovalores foram obtidos de uma matriz de correlação e os *loadings* representam a correlação entre as variáveis originais e os escores. Os escores foram projetados dentro do espaço reduzido dos componentes principais com autovalores ≥ 1 .

Buscamos por padrões de discriminação das amostras populacionais e/ou por padrões espaciais de variação através de projeções entre os componentes principais mais explicativos entre si e por projeções dos componentes principais (variáveis dependentes) contra o gradiente latitudinal (variável independente). Os componentes principais de morfologia e acústica foram projetados apenas contra latitude, pois a longitude não mostrou independência em relação à latitude ($R^2 = 0,95$, correlação de Spearman).

[2.] Determinação de unidades taxonômicas operacionais (UTOs). A formação das UTOs seguiu um processo de construção hierárquico, onde cada linha de evidência foi explorada a fim de subsidiar a formação de grupos entre as amostras examinadas. Em seguida buscamos por congruências entre os grupos encontrados e então, propusemos as unidades taxonômicas operacionais através da combinação desses dados.

[3.] Testes de hipóteses. Para testar se as unidades taxonômicas operacionais (UTOs) atribuídas às populações de *Hypsiboas semilineatus* analisadas diferiam significativamente

e poderiam ser associadas a diferentes espécies crípticas, foram utilizadas três linhas de evidências (critérios operacionais): diferenciação na morfologia externa (tamanho e forma corpórea), diferenciação nos cantos de anúncio (estabelecimento de barreira pré-zigótica) e diferenciação nos padrões de coloração. Para os caracteres de morfologia externa foi realizada a Análise das Variáveis Canônicas ou Análise Discriminante Canônica (AVC). Esta análise verifica se há diferenças entre dois ou mais grupos de indivíduos em relação às variáveis simultaneamente e maximiza as diferenças entre os grupos (McGarigal *et al.* 2000). Ao contrário da Análise dos Componentes Principais (PCA), a análise discriminante é mais recomendada para estudos de variação geográfica, pois ordena grupos estabelecidos *a priori* (James & McCulloch 1990), além de prever a classificação do indivíduo em relação ao seu grupo através de Tabela de Classificação. Esta matriz toma como base a distância de Mahalanobis para decidir qual grupo está mais próximo de cada observação (espécime), informando a frequência de classificação de espécimes corretamente alocados nos grupos *a priori* definidos. A AVC foi gerada no programa Statistica (versão 8.0) utilizando como fonte de dados os componentes principais gerados previamente pela PCA livre do efeito do tamanho sobre a matriz de variáveis morfométricas. Esse procedimento buscou evitar a colinearidade entre variáveis originais, já que os componentes principais são considerados independentes entre si por serem gerados de eixos ortogonais, resultando em níveis de tolerância iguais a 1.

Na análise da variação do canto de anúncio, a diferença entre unidades taxonômicas operacionais (UTOs) considerando simultaneamente seis parâmetros do canto foi testada através da Análise de Variância Multivariada Não-Paramétrica (PERMANOVA ou NPMANOVA; Anderson 2001). A NPMANOVA foi efetuada pelo programa PAST (Paleontological Statistics versão 2.05) utilizando os eixos sintéticos mais representativos da variação total obtidos pela análise dos componentes principais (PCA) dos parâmetros acústicos como variáveis dependentes, UTOs como variável categórica e como medida de distância a Distância Euclidiana. A significância foi computada por permutação dos membros dos grupos por meio de 10.000 replicações. Comparações posteriores foram realizadas como NPMANOVAs para todos os pares de UTOs e o valor de significância ($P < 0,05$) foi corrigido pelo método de Bonferroni. Optou-se por teste não paramétrico porque os escores obtidos para os componentes principais violaram a premissa de distribuição normal.

Resultados

Análise exploratória dos dados

[1.] Morfologia externa (tamanho e forma). Durante a fase de coleta de dados dos espécimes oriundos da Floresta Atlântica, não foi possível perceber diferenças morfológicas expressivas entre as amostras geográficas examinadas. No entanto, posteriormente foi possível perceber dois grupos geográficos distinguíveis pelo tamanho corpóreo dos indivíduos: um grupo apresentando indivíduos grandes e outro apresentando indivíduos pequenos. Essa divisão foi confirmada através do gráfico de dispersão gerado com dados da análise dos componentes principais realizada com as medidas morfométricas e sem correção para o fator “tamanho” (Figura 1). Os escores individuais do eixo de maior explicação (PC1=96,28%) projetados contra o gradiente latitudinal apresentaram associação significativa ($r^2=0,30$; $P<0,0001$) e possibilitou a observação de padrão espacial de distribuição das amostras populacionais em grupos geográficos definidos pelas magnitudes mínima ou máxima dos valores do PC1. Este padrão constituiu uma clina geográfica de tamanho corpóreo, onde há uma redução corporal nos indivíduos no sentido norte-sul (Figura 2). A partir desta análise, pudemos ordenar as populações amostradas nas seguintes Unidades Taxonômicas Operacionais (UTOs): UTO A, composta de indivíduos grandes e compreendidos entre os graus de latitude 12 S e 19 S e UTO B composta de indivíduos menores em relação aos da UTO A e compreendidos entre os graus de latitude 20 S e 28 S. Entretanto, outro grupo com populações de indivíduos pequenos foi detectado entre os graus de latitude 8 S e 12 S (Figura 1), porém com número reduzido de espécimes (N = 11) (UTO C).

A projeção dos escores individuais no espaço reduzido dos dois primeiros eixos (PC1 vs. PC2) atesta essa discriminação em relação ao tamanho corpóreo, uma vez que foi possível verificar a tendência à discriminação da UTO A (compreendida entre o norte da Bahia e o norte do Espírito Santo, acima do Rio Doce) em relação à UTO B (compreendida entre a região abaixo do Rio Doce no Estado do Espírito Santo e o Estado de Santa Catarina) e UTO C (Estados de Alagoas e Sergipe), apesar da existência de zona de sobreposição de espécimes entre todas elas (Figura 3). Outra observação feita após a formação das UTOs supracitadas foi em relação à angulação da mandíbula que era distinta nos espécimes da UTO A, de modo que o tímpano nesses indivíduos apresentava-se em

plano inclinado (oblíquo) em relação ao eixo do corpo, ao passo que nos indivíduos da UTO B, o tímpano apresentava-se em plano reto em relação ao eixo do corpo (Figura 4). Com relação aos padrões de desenho/colorido, somente o padrão ventre com pintas escuras foi associado às populações específicas: os indivíduos da UTO A apresentaram este padrão em frequência aproximada de 60%, enquanto que a totalidade dos indivíduos da UTO B examinados, não apresentaram tal padrão.

A remoção do efeito do tamanho pelo método alométrico de Burnaby permitiu analisar a variação espacial do componente “forma” das amostras obtidas. Os cinco primeiros componentes principais extraídos dos dados transformados explicaram 78,87% da variação total, mas nenhum apresentou associação significativa com o gradiente latitudinal ($r^2=0,0015$; $P<0,48$). Todavia, o gráfico de dispersão gerado a partir da projeção do PC1 (24,92%) contra o gradiente latitudinal mostrou leve tendência clinal em dois gradientes de variação: um entre os graus de latitude 10 S e 15 S (linha costeira abaixo do Rio São Francisco até o Município de Una, Estado da Bahia, acima do Rio Pardo) e outro entre os graus de latitude 18 S e 28 S (abaixo do Rio Jequitinhonha até o Município de Brusque, Estado de Santa Catarina), com quebra deste padrão clinal na altura do grau de latitude 16 S (acima do Rio Jequitinhonha) (Figura 5). A variável que mais contribuiu para o PC1 foi a distância narina-ponta do focinho (*loading* = 0,96) (Tabela 1).

[2.] Vocalização de anúncio. As vocalizações de anúncio das populações oriundas de sete localidades ao longo da Floresta Atlântica foram analisadas quanto a seis parâmetros acústicos pela análise dos componentes principais e dois componentes com autovalores maiores que um foram obtidos. O primeiro componente principal (PC1) explicou 38,92% da variação total e esteve fortemente associado aos parâmetros ligados aos pulsos das notas (número de pulsos e taxa de repetição de pulsos, *loadings* = 0,96 e 0,95, respectivamente). O PC2 explicou 30,45% da variação total e teve como parâmetros de maior contribuição a duração da nota (0,97) e taxa de repetição da nota (0,96), mostrando, portanto, forte associação aos parâmetros das “notas do canto de anúncio”. Os *loadings* para os dois componentes de maior explicação são apresentados na tabela 2. A projeção dos escores individuais sobre o espaço reduzido do PC1 vs. PC2 resultou em alta sobreposição entre as UTOs (Figura 6), mas a projeção dos escores individuais do PC1 contra o gradiente latitudinal evidenciou discriminações entre UTOs com a taxa de repetição dos pulsos aumentou no sentido norte-sul da distribuição da espécie. Os espécimes dos municípios de Catu e de Mata de São João (ambos no Estado da Bahia), situados ao norte da distribuição

da espécie e pertencentes à UTO A, apresentaram as menores taxas ($\bar{X} = 17,23$ [12,24-21-15], DP = 2,52 e $\bar{X} = 19,31$ [16,31-22,31], DP = 4,24, respectivamente), enquanto aquelas situadas mais ao sul e pertencentes à UTO B obtiveram taxas maiores ($\bar{X} = 21,56$ [13,74-27,83], DP = 3,21 no Município de Brusque, Estado de Santa Catarina e $\bar{X} = 26,37$ [13,67-36,83], DP = 4,96, no Município de Morretes, Estado do Paraná). A amostra do Município de Sooretama (Estado do Espírito Santo), pertencente à UTO A, apresentou taxa de repetição de pulsos intermediária ($\bar{X} = 23,79$ [12,74-36,88], DP = 6,83). Padrão geográfico semelhante foi observado para o parâmetro “número de pulsos”, com a amostra do Município de Catu (UTO A) apresentando o menor número de pulsos por nota ($\bar{X} = 21$ [17-25], DP = 2,35) e as amostras da UTO B somadas a do Município de Sooretama (UTO A) apresentaram número de pulsos médio superior a 25 pulsos por nota. A amostra do Município de Mata de São João quebra o padrão de aumento no número de pulsos por nota verificado, apresentando valores compatíveis com aqueles da UTO B ($\bar{X} = 27$ [24-30], DP = 4,24).

A projeção dos escores individuais do PC2 (parâmetros associados às notas do canto de anúncios) contra o gradiente latitudinal resultou em variação em mosaico.

[3.] Caracteres de coloração. Os padrões de coloração observados se encontram sumarizados na figura 7. Nenhum padrão de colorido foi exclusivo de determinada unidade taxonômica operacional (UTO), mas houve padrões que estiveram ausentes em determinadas UTOS. O padrão ventre com manchas esteve fortemente associado à UTO A (57,14% dos espécimes desta UTO), enquanto que o mesmo padrão esteve presente na UTO B em somente 7,69% dos espécimes e na UTO C em 42,85% dos espécimes (ver Figura 7). Na UTO B o padrão ventre sem machas foi observado em 92,3% dos espécimes, enquanto na UTO A em menos de 50% dos espécimes e na UTO C em 57,14%. Os demais caracteres de coloração apresentaram padrões que variaram em mosaico entre as UTOS.

[4.] Qualidade das unidades taxonômicas operacionais. A análise combinada das linhas de evidência, considerando-se a congruência entre elas, conferiu suporte às UTOS utilizadas. Não foi necessário realocar espécimes entre as unidades definidas ou criar novas unidades.

Testes de hipóteses: comparação entre UTOs

[1.] **Morfometria tradicional.** A análise discriminante múltipla realizada com os dados sem correção do tamanho gerou dois eixos canônicos significativos (critério de Wilk's = 0,42; $P < 0,003$, corrigido por Bonferroni). O primeiro eixo canônico (VC1) explicou 95% da variação total e teve maior contribuição das seguintes variáveis: comprimento rostro-cloacal, largura da cabeça, comprimento da coxa e comprimento da tíbia. Como não houve correção para o fator tamanho, este eixo bem como o segundo extraído, contêm informação do tamanho corpóreo. A projeção dos escores individuais no espaço reduzido destes eixos (VC1 vs. VC2) revelou tendência à discriminação da UTO A em relação às UTOs B+C (Figura 8). A NPMANOVA realizada com as UTOs a fim de testar a hipótese nula de que não havia diferenças entre as mesmas foi significativa ($F = 27$, $P < 0,05$), rejeitando a hipótese. A exceção foram as UTOs B e C que não apresentaram diferenças significativas entre si. A análise discriminante realizada com os dados morfométricos corrigidos para o tamanho gerou dois eixos significativos (critério de Wilks = 0,76; $P < 0,001$) (Tabela 1). O primeiro eixo canônico (CV1) explicou 78,34% da variação total e teve como variável de maior contribuição o comprimento do pé, cujo *loading* associado foi de 0,60. O segundo eixo canônico (CV2) explicou 21,65% da variação e teve a distância narina-ponta do focinho como variável de maior contribuição, com *loading* de 0,52. A projeção dos escores individuais no espaço reduzido destes eixos (CV1 vs. CV2) apresentou alta sobreposição entre as UTOs (Figura 9).

[2.] **Vocalização de anúncio.** A análise de variância multivariada não-paramétrica (NPMANOVA), usando o componente principal mais explicativo (PC1) como variável dependente, rejeitou a hipótese nula de ausência de diferença entre os cantos de anúncio representativos das unidades taxonômicas operacionais ($F=27,71$; $P < 0,0001$). No entanto, a análise direta das vocalizações por amostra geográfica revelou que somente as amostras do Município de Piassaguera, Estado de São Paulo e do Município de Morretes, Estado do Paraná não apresentaram diferença significativa entre si ($P < 0,18$). As demais amostras foram todas diferentes entre si ($P < 0,01$, corrigido por Bonferroni).

[3.] **Caracteres de coloração.** Os padrões de coloração variaram em grau (frequência) entre as UTOs, sendo o padrão presença de manchas para a superfície ventral o único fortemente associado a uma UTO (A). As UTOs B e C apresentaram indivíduos com este

padrão, porém em frequência muito baixa e nestes casos, os indivíduos que pertenciam a populações geograficamente próximas dos limites da UTO (A). Os demais padrões variaram em mosaico.

Discussão

As primeiras análises realizadas com as populações da Floresta Atlântica não permitiram classificá-las em grupos morfológicos discretos, mas apontaram para a existência de dois grupos de tamanhos corpóreos distintos. A variação em tamanho observada seguiu uma clina geográfica (gradiente observado em caracteres mesuráveis [Huxley 1938]), havendo redução do tamanho corporal dos espécimes no sentido Norte-Sul da distribuição. Essa pode ser uma característica muito comum em espécies de ampla distribuição (Angulo & Reichle 2008), como é o caso de *Hypsiboas semilineatus*, que se distribui ao longo de quase toda a extensão da Mata Atlântica brasileira (Van Sluys & Rocha 2010). Heyer (1978) observou a ocorrência de variações morfológicas mais marcantes em populações que ocorriam na periferia da distribuição da espécie, porém chamou atenção para o fato de essas variações ocorrerem de maneira contínua, sem quebras discretas, impedindo o reconhecimento de unidades diagnosticáveis (=espécies). Por outro lado, Schäuble (2004) apontou que o tamanho do corpo é, por si, uma característica morfológica fundamental, importante no contexto fisiológico, ecológico e social de uma espécie, de modo que é possível admitir que a diferença de tamanho observada no presente estudo (morfologia geral dos espécimes analisados semelhante, mas com variações acontecendo de maneira gradual ao longo da distribuição) seja reflexo do contexto evolutivo da espécie. Bergmann (1846) e Allen (1876) foram pioneiros em constatar a significância dos gradientes de variação em tamanho corporal e comprimento relativo de apêndices correlacionado com distribuição geográfica de espécies. As generalizações conhecidas como Regras de Bergmann e Allen, respectivamente, estabelecem que animais da mesma espécie tendem a ser maiores em climas mais frios e tendem a ter apêndices relativamente mais curtos. Para justificar as exceções, Bergmann (1846) acrescentou um corolário à sua generalização, admitindo para animais pecilotérmicos uma relação inversa, ou seja, estes animais apresentariam corpos maiores nas regiões mais quentes, como foi o caso das populações da UTO A do presente estudo. Tal padrão corrobora a ausência de relação entre tamanho-latitude apontada por Ashton (2004). Este autor apresentou dados referentes aos principais grupos de tetrápodes terrestres e os resultados foram generalizados para o

tamanho do corpo desse grupo de animais, não havendo tendência ao aumento corporal com o aumento da latitude como já foi assumido em estudos anteriores analisando táxons isoladamente (ver Ashton 2004).

Outros estudos sugeriram a existência de correlação entre variação clinal no tamanho do corpo e variação clinal em umidade e apontaram para possíveis vantagens de possuir corpos maiores em ambientes mais secos (Calhoun & Jameson 1970; Nevo & Capranica 1985, Castellano & Giacoma 1998). No entanto, os resultados aqui apresentados para as populações da Floresta Atlântica não puderam atestar tal associação, visto que, apesar do gradiente latitudinal amplo associado à distribuição da linhagem, a região geográfica onde se localizam as UTOs compartilha o subclima tropical super úmido e úmido (IBGE 1978). Contudo, resultados conflitantes com os trabalhos supracitados foram apresentados por Bernal *et al.* (2005) para populações de *C. palmatus*, com as populações de indivíduos maiores nas regiões mais úmidas. Isso ressalta a importância de variáveis ambientais fisiologicamente críticas como temperatura, umidade, sazonalidade e comprimento da estação de crescimento nas taxas de crescimento das espécies, uma vez que refletem diretamente nas diferenças interpopulacionais de tamanho médio do corpo (Schäuble 2004).

A utilização exclusiva de evidências morfológicas para delimitar espécies pode ser uma fonte para a formação de complexos de espécies, uma vez que a possibilidade de detectar espécies crípticas é bastante reduzida (Angulo *et al.* 2003; Angulo & Reichle 2008; Funk *et al.* 2008; Angulo & Icochea 2010). O histórico taxonômico confuso relacionado a *Hypsiboas semilineatus* apontava para essa situação, uma vez que sua semelhança morfológica com outra espécie de ocorrência amazônica (*Hypsiboas geographicus*), bem como os diferentes padrões morfológicos associados à sua ontogenia (ver Duellman 1973), fizeram com que seu status taxonômico fosse reavaliado diversas vezes por vários autores, na maioria das vezes considerando apenas critérios morfológicos (ver Frost 2011).

A nossa escolha pelas vocalizações de anúncio como uma das linhas de evidência para delimitar linhagens evolutivas, foi devido sua reconhecida função na manutenção do isolamento reprodutivo entre os anuros, atuando como barreira pré-zigótica em razão do seu caráter espécie-específico (Ryan 1988; Ryan & Wilczynski 1991). A análise dos componentes principais realizada com seis parâmetros acústicos das populações da Floresta Atlântica, resultou em dois eixos principais, PC1 e PC2, que puderam ser classificados como vetores de “pulso” e “nota” respectivamente. O vetor pulso, correspondente ao PC1, apresentou variação em clina, podendo-se constatar um aumento

na taxa de repetição de pulsos do norte para o sul ao longo da distribuição, com os indivíduos dos municípios de Catu e Mata de São João, ambos no Estado da Bahia e componentes da UTO A, apresentando as menores taxas e o indivíduo de Morretes, no Estado do Paraná componente da UTO B, apresentando as maiores taxas. Houve ainda uma redução no número de pulsos por nota seguindo a mesma variação clinal. Essas características conferem às populações da UTO A uma vocalização de anúncio relativamente mais lenta e mais comprida que a apresentada pelos espécimes da UTO B. Esse tipo de variação geográfica em características da vocalização de anúncio é esperada em populações co-específicas de espécies amplamente distribuídas (Gerhardt 1994; Wilczynski & Ryan 1999; Bernal *et al.* 2005) e a observação de clinas é explicada pela redução do fluxo gênico entre as populações mais distantes, o que permite que essas populações sejam submetidas à diferentes pressões de seleção e podendo culminar em isolamento por distância (Wright 1943; Castellano *et al.* 2000; Bernal *et al.* 2005). O vetor nota não apresentou padrões claros de variação entre as UTOS e não houve registro acústico para a UTO C.

Os padrões de coloração não se mostraram capazes de diagnosticar populações ou grupos de populações de *Hypsiboas semilineatus* dentro do universo estudado, principalmente pela ausência de padrões de caracteres exclusivos para amostras populacionais ou com frequências de ocorrência distintas entre as unidades taxonômicas operacionais. A exceção foi o padrão ventre com manchas que foi fortemente associado aos indivíduos da UTO A, principalmente aqueles entre os graus de latitude 13° S e 19° S, que vai da região conhecida como Baixo Sul da Bahia até a margem meridional do Rio Doce, no Estado do Espírito Santo. Os indivíduos das UTOS B e C que apresentaram o padrão ventre com manchas, pertenciam a populações geograficamente adjacentes aos limites da UTO A, sugerindo a existência de algum grau de fluxo gênico entre essas populações.

Padrões geográficos semelhantes aos encontrados neste trabalho já haviam sido reportados em estudos anteriores realizados com outros táxons. Müller (1973) delimitou a área da Floresta Atlântica de Pernambuco até Santa Catarina, subdividindo-a em três grupos como sendo de centros de dispersão de espécies, ao quais chamou de Área de Pernambuco, Área da Bahia e Área Paulista. Kinzey (1982) também propôs a existência de três centros de endemismo na Floresta Atlântica baseado na distribuição de Primatas: Área da Bahia, área “Rio Doce” e área “Paulista”. Esses resultados são em grande parte coincidentes com o por nós apresentado, onde as populações da Floresta Atlântica aqui amostradas também puderam ser divididas em três grupos: 1) região costeira acima do Rio São Francisco, 2)

região costeira desde a Bahia até o Norte do Espírito Santo (até o Rio Doce) e 3) abaixo do Rio Doce até Santa Catarina, corroborando à possível existência de histórico biogeográfico comum na Floresta Atlântica, como sugerido por Costa *et al.* (2000).

A análise combinada de evidências (morfometria, caracteres de coloração e parâmetros acústicos) adotada para a formação das unidades taxonômicas operacionais (UTOs) mostrou-se eficaz, conferindo suporte aos grupos formados, a partir da congruência entre as mesmas. Isso minimizou a possibilidade de classificação arbitrária dos espécimes em suas respectivas UTOS. Os testes aos quais essas unidades foram submetidas apontaram para as diferenças significantes entre elas, o que pode ser um indicativo da existência de linhagens crípticas sob o nome de *Hypsiboas semilineatus* ocorrendo ao longo da Mata Atlântica. Contudo, a ocorrência de clinas geográficas observada para alguns elementos constituintes das linhas de evidência utilizadas poderia nos orientar a admitir a existência (atual ou não) de fluxo gênico entre populações avaliadas no presente trabalho.

Considerando que a forma amazônica da qual *H. semilineatus* foi originalmente tratada como variedade apresenta grande semelhança morfológica com os indivíduos da UTO A apresentando padrão de coloração ventral e angulação da mandíbula semelhantes aos destes, nós assumimos que as populações compreendidas do Estado de Pernambuco até o Norte do Espírito Santo, acima do Rio Doce, anteriormente referidas como *H. semilineatus*, tratam-se na verdade de *Hypsiboas geographicus*, o que amplia a distribuição desta espécie para o bioma Atlântico. O exame do material topotípico foi decisivo para desenvolver esta hipótese.

Deste modo, os resultados obtidos nos levam a reconhecer que as populações da Floresta Atlântica ora analisadas sob o nome de *H. semilineatus* pertencem a duas linhagens pouco distintas e que poderiam ser confundidas em análises taxonômicas se a variação clinal observada para muitos parâmetros fossem consideradas variações pontuais regionais.

Definição da espécie

Hypsiboas semilineatus (Spix, 1824)

Hyla geographica var. *semilineata*, 1824

Cophomantis punctillata Peters, 1890

Hyla (Hylella) punctillata Peters, 1873, “1872”

Hyla punctillata Boulenger, 1882

Hyla semilineata Silveira and Caramaschi, 1989; d'Heursel and de Sá, 1999; Izecksohn and

Carvalho-e-Silva, 2001

Hypsiboas semilineatus. Faivovich *et al.* 2005; Wiens *et al.* 2010.

Holótipo. Não designado na publicação original, embora na mesma encontra-se uma figura em vista dorsolateral (prancha 11, figura 2). O holótipo ZSM 47/0 foi considerado perdido por Hoogmoed and Gruber (1983) e confirmado por Glaw and Franzen (2006). De acordo com o artigo 73.1 do Código de Nomenclatura Zoológica (ICNZ 2009), esta prancha pode ser considerada o holótipo, como sugerido por Frost (2011).

Localidade-tipo. “Provinciae Rio de Janeiro”, Brasil. Bokermann (1966b) sugeriu a cidade do Rio de Janeiro como provável localidade tipo.

Diagnose. Espécies incluídas no gênero *Hypsiboas* apresentam 33 transformações em genes de proteínas nucleares, mitocondriais e ribossomais. *Hypsiboas semilineatus* compõe com mais quatro espécies o grupo de *H. semilineatus*, diagnosticado por 128 transformações em genes de proteínas nucleares, mitocondriais e ribossomais. Uma possível sinapomorfia morfológica para esse grupo de espécies é a presença de membrana palpebral reticulada (Faivovich *et al.* 2005). *Hypsiboas semilineatus* se distingue de todas as espécies do seu grupo pela seguinte combinação de características: (1) médio porte (CRC médio 42,41 mm em machos), (2) cabeça mais larga do que comprida ou de comprimento e largura equivalentes, (3) ausência de prepólex externamente desenvolvido em ambos os sexos, (4) mandíbula pouco angulada em vista dorsal.

Comentários. *Hypsiboas semilineatus* (= *Hyla semilineata*) foi sumariamente descrito como uma variedade atlântica de *H. geographicus* (= *Hyla geographica*), cuja ocorrência é restrita, até o momento, à região amazônica. Adicionalmente, dado a grande diferença ontogenética pela qual passam os indivíduos dessa espécie, diferenciando-os bastante dos adultos (Hennessy 1968), outras espécies da Floresta Atlântica foram descritas como novas a partir de juvenis de *H. semilineatus* (Heinhardt & Lütken 1862; Cope 1867; Peters 1870), o que só foi corrigido posteriormente. Duellman (1973) sinonimizou *H. semilineatus* e *H. geographicus* diante da ausência de caracteres diagnósticos que separassem consistentemente as duas formas. No entanto, as formas foram novamente separadas e consideradas como espécies plenas por Silveira & Caramaschi (1989) baseado em 5 características qualitativas e de maneira breve sem qualquer estatística associada às

diferenças nem apresentação do material examinado pelos autores. Dessa maneira, faz-se necessário à redefinição de *H. semilineatus* a partir de topótipos de modo a fornecer características diagnósticas precisas, que garantam a estabilidade da espécie.

Caracterização da espécie. Cabeça geralmente mais larga do que comprida, focinho arredondado ou truncado em vistas dorsal e lateral, membrana da pálpebra inferior translúcida com reticulações claras; dimorfismo sexual de tamanho com machos menores do que fêmeas; padrão de coloração dorsal variado podendo ou não apresentar linha mediana de coloração castanha escura; quando presente, pode se estender da ponta do focinho até o final do corpo; apêndice calcâneo triangular pequeno a moderadamente desenvolvido presente em todos os indivíduos (não bem desenvolvido como em *H. calcaratus*); alguns indivíduos podem apresentar manchas brancas de textura líquenosa de tamanho e forma irregulares sobre tais apêndices, bem como irregularmente distribuídas sobre o dorso e superfície dorsal dos membros; superfície dorsal da coxa pode ser imaculada ou apresentar barras transversais marrons de espessura variável. Estas podem bifurcarem-se para ambas as faces interna e externa da coxa. Padrão semelhante pode ser observado para as superfícies da tíbia e tarso, com o número de barras acompanhando o apresentado na coxa ou em menor quantidade. Membranas interdigitais moderadamente desenvolvidas, fórmula palmar $I\ 3 - 3\ II\ 1 - 2\ \frac{1}{2}\ III\ 1\ \frac{3}{4} - 1\ IV$ em fêmeas; $I - II\ 1 - 2\ III\ 2 - 1\ IV$ em machos; comprimento dos dedos em ordem decrescente de tamanho $I < II < IV < III$ em ambos os sexos. Fórmula plantar $I\ 1 - 1\ \frac{1}{2}\ II\ 1 - 2\ III\ 1 - 2\ IV\ 1\ \frac{1}{2} - 1\ V$ em fêmeas; $I\ 1\ \frac{1}{2} - 2\ II\ 1 - 2\ III\ 1 - 2\ IV\ 2 - 1\ V$ em machos. Comprimento dos artelhos em ordem decrescente de tamanho $I < II < V < III < IV$ em ambos os sexos. Pré-pólex externamente desenvolvidos ausentes em ambos os sexos. Região ventral de textura granular com ou sem pontos escuros; regiões torácica e gular com granulação menos evidente e imaculados. Pele dorsal é finamente granulada. A coloração dorsal varia desde creme a castanho escuro, com espécimes podendo ser totalmente imaculados a espécimes com faixa pós-orbital oblíqua marrom escura se estendendo até a região mediana do corpo podendo formar uma marca em forma de “x”, bem como apresentando faixa transversal de mesma coloração que as anteriores sobre a região sacral. As combinações entre esses desenhos são bastante variáveis entre os indivíduos em uma mesma população. A coloração dos flancos varia desde granulações brancas finas em fundo

preto a até desenhos irregulares do tipo “onçado” ou barras verticais de espessura variável. Tubérculo metatarsal interno desenvolvido, oval, lateralmente inserido na base do artelho I. Sub-articulares circulares, únicos. Tubérculo metatarsal externo ausente, supranumerários circulares. Pele dorsal levemente áspera e coberta por pequenos grânulos. Pele ventral granulosa, exceto região gular e torácica. A granulação aumenta na região adjacente à abertura cloacal. Superfície anterior e posterior da coxa lisos. Língua grande, cordiforme, ocupa quase todo o assoalho bucal, pouco livre e não entalhada atrás. Canto rostral levemente curvado, região loreal reta. Abertura das narinas dorsolateralmente inseridas sobre uma pequena protuberância. O espaço entre o canto e o lábio superior apresenta um leve sulco. Discos adesivos dos dedos são menores do que o diâmetro do tímpano. Prega supra-timpânica bem desenvolvida se estendendo desde a superfície mediana dorsal do tímpano até a inserção do braço. Prega dérmica na extensão lateral do antebraço; apêndice calcâneo triangular pequeno.

Comparação com outras espécies. *Hypsiboas semilineatus* difere de *H. boans* e *H. wavrini* pelo tamanho menor (CRC médio em machos 42,41mm; CRC médio combinado em machos de *H. boans* e *H. wavrini* 96,6mm). Difere de *H. pombali* pela ausência de prepólex externamente desenvolvido, membranas interdigitais desenvolvidas nas mãos e proporção da cabeça (mais comprida do que larga em *H. pombali* e maior largura ou largura equivalente ao comprimento em *H. semilineatus*). Difere de *H. geographicus* por apresentar mandíbula pouco angulada (bastante angulada em *H. geographicus* ver figura 4).

Caracterização de topótipo adulto. Espécime MNRJ 47344. Aspecto robusto, comprimento da cabeça equivalente à largura da mesma; largura da cabeça cabendo cerca de 2,5 vezes no comprimento rostro-cloacal; focinho arredondado em vista lateral e arredondado à subelíptico em vista dorsal (Figura 10); narinas pequenas, subcantais, com abertura lateralmente inserida sobre região levemente projetada próximo à ponta do focinho; distância inter-narina 1,5 vez menor que a distância olho-narina e menor que a largura da pálpebra superior, aproximadamente igual ao diâmetro do tímpano e cerca de 60% do diâmetro do olho e 48% da distância interocular; diâmetro do olho maior que a distância olho-narina e menor que a distância interocular e um pouco mais que 1,5 vez o diâmetro do tímpano; largura da pálpebra superior cerca de 75% do diâmetro do tímpano e 60% da distância interocular e um pouco maior que o diâmetro do tímpano; distância

interocular pouco mais que o dobro do diâmetro do tímpano e maior que o diâmetro do olho; canto rostral levemente marcado, reto mas com leve curvatura em direção à ponta do focinho, região loreal oblíqua, côncava e com um sulco longitudinal suave se estendendo da região logo atrás das narinas até o primeiro terço da margem inferior dos olhos; lábios de cor branca, não espessados; lábio superior pouco visível de cima; olhos não muito salientes; espaço interorbital plano; tímpano grande, arredondado à ovoide, prega supra-timpânica fraca mas evidente se estendendo até a região posterior à inserção do braço; diâmetro do tímpano cerca de 60% do diâmetro do olho, saco vocal pouco pouco a moderadamente desenvolvido; língua grande, cordiforme, cobrindo quase todo o assoalho bucal, pouco livre e não entalhada atrás; dentes vomerianos em dois grupos alongados oblíquos e inseridos entre e atrás das coanas; coanas grandes, alongadas e amplamente separadas.

Braços delgados; antebraços ligeiramente hipertrofiados; prega dérmica pouco a moderadamente desenvolvida ao longo da face posterior do antebraço e cotovelo. Mão com tubérculo palmar pouco distinto; tubérculo tenar distinto, alongado, sobre o qual, na superfície superior, encontram-se excrescências nupciais; dedos robustos, discos adesivos desenvolvidos com diâmetro cerca de 85% do diâmetro do tímpano. Fórmula palmar I vestigial II 1(-) - 2 (-) III 2 (+) - 1 (-) IV; $I < II = IV < III$. Prepólex ausente; excrescências nupciais presentes na base do dedo I; tubérculos sub-articulares únicos, de tamanho moderado, arredondados; supranumerários presentes e arredondados (Figura 10).

Pernas longas, delgadas; comprimento da coxa e tíbia equivalentes e menores que o comprimento do tarso-pé; soma dos comprimentos da coxa e tíbia aproximadamente igual ao comprimento rostro-cloacal; calcanhares se sobrepõem quando as pernas são flexionadas em ângulo reto em relação ao corpo; apêndice calcâneo presente, pequeno e triangular; prega dérmica pouco desenvolvida ao longo da face posterior do tarso-pé e moderadamente desenvolvida na face interna do tarso-pé; pé com artelhos robustos, com discos adesivos desenvolvidos, pouco menores que o dos dedos e cerca de 80% do diâmetro do tímpano; artelhos em ordem crescente de tamanho $I < II < V < III < IV$, fórmula plantar I 1 (-) - 2 (+) II 1 - 2 III 1 (-) - 2 IV 2 - 1 V; tubérculo metatarsal interno desenvolvido, lateralmente inserido na base do artelho I, formato triangular com base voltada para o centro do pé; tubérculo metatarsal externo ausente; tubérculos sub-articulares únicos, circulares; supranumerários circulares presentes, mas pouco evidentes (Figura 10).

Pele dorsal levemente áspera e coberta por pequenos grânulos. Pele ventral granulosa,

exceto região gular e torácica. A granulação aumenta na região adjacente à abertura cloacal. Superfície anterior e posterior da coxa lisos.

Colorido em vida. Dorso variando entre creme e castanho escuro, podendo apresentar linha mediana longitudinal castanho escura, estreita, cujo comprimento pode se alongar da ponta do focinho até o uróstilo. Alguns espécimes podem apresentar diferentes combinações de desenho dorsal que incluem faixa pós-orbital oblíqua, marca em forma de “x” na porção média do dorso e faixa sacral transversal. Lábio superior amarelo e inferior branco. As superfícies externas da coxa e tíbia podem ou não apresentar barras transversais castanho escuro de diferentes espessuras. Alguns indivíduos podem apresentar ainda manchas de tamanho e forma irregulares de cor branca sobre o dorso e principalmente sobre o apêndice calcâneo. Íris castanha avermelhada com região periférica negra circundada por um anel estreito de coloração azul claro. Pálpebra inferior transparente com vermiculações douradas ou brancas.

Colorido em preservativo. Os espécimes preservados mantem a coloração dorsal exibida em vida porém mais esmaecida. A cor alaranjada da região ventral desaparece e torna-se uniformemente creme. As membranas interdigitais adquirem tonalidades pardas.

Distribuição geográfica. *Hypsiboas semilineatus* habita bordas de mata e áreas abertas associadas à formações florestais principalmente em regiões de baixadas e costeiras. A espécie se distribui desde o Estado do Espírito Santo, abaixo do Rio Doce até o Estado de Santa Catarina. Seu limite mais para o interior do continente se dá no Estado de Minas Gerais à leste da cadeia do espinhaço.

Distribuição. Até o presente trabalho, a distribuição da espécie contemplava a quase totalidade da Mata Atlântica brasileira, com registros desde o Estado de Pernambuco até o Estado de Santa Catarina. Com este, a distribuição de *Hypsiboas semilineatus* ficará restrita à região abaixo do Rio Doce, Estado do Espírito Santo até o Estado de Santa Catarina. O mapa com a distribuição de todos os espécimes examinados neste estudo é apresentado na figura 11. Deve ser observado que o mapa exhibe os espécimes classificados em UTOs e que a partir desse trabalho, somente os indivíduos da UTO B devem ser considerados como *Hypsiboas semilineatus*.

Agradecimentos

Nós agradecemos aos curadores e responsáveis que concederam empréstimo de material

zoológico: Ana Lúcia Prudente, Gilda Vasconcelos de Andrade e Renato Neves Feio. Aos curadores e responsáveis que abriram as portas das coleções para minha visita: Antônio Jorge S. Argôlo, Célio F.B. Haddad, José P. Pombal Jr e Hussam Zaher. Aos pesquisadores que cederam as gravações: Axel Kwet, Itamar Martins, Rodrigo Lingnau, Flora Juncá, Iuri Dias, Albertina Lima, Luciana Erdtmann e Willian Duellman através de Rafael Márquez, Laura González e Mercedes Pérez da FZ Sound collection from the Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC) em Madrid. A Deise Cruz, Camilla Souto, Iuri Dias e Maria Cunha pelo auxílio nas coletas (espécimes e gravações). A Iuri Dias pela elaboração do mapa. Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) pela licença concedida (número 24432-1) para coleta dos espécimes. Ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Animal, Universidade Federal da Bahia e à FAPESB (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia) e CNPq pelo suporte financeiro e concessão das bolsas.

Referências

- Allen, J.A. (1876) Geographic variation among North American Mammals, especially in respect to size. *Bulletin of the United States Geological and Geographical Survey of the Territories*, 2, 309–344.
- Anderson, M.J. (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26, 32–46.
- Angulo, A. & Reichle, S. (2008) Acoustic Signals, species diagnosis, and species concept: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 152: 59–77.
- Angulo, A., Cocroft, R.B. & Reichle, S. (2003) Species identity in the genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae) in southeastern Peru. *Herpetologica*, 59: 490–504.
- Angulo, A. & Icochea, J. (2010) Cryptic species complexes, widespread species and conservation: lessons from Amazonian frogs of the *Leptodactylus marmoratus* group (Anura, Leptodactylidae). *Systematics and Biodiversity*, 8 (3), 357–370.
- Ashton, K.G. (2004) Sensitivity of intraspecific latitudinal clines of body size for tetrapods to sampling, latitude and body size. *Integrative and Comparative Biology*, 44, 403–412.
- Bergmann, C. (1846) Ueber die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zur ihrer Grösse. *Göttinger Studien*, 3, 1–116.
- Bernal, X.E., Guarnizo, C. & Lüddecke, H. (2005) Geographic variation in advertisement

- call and genetic structure of *Colostethus palmatus* (Anura, Dendrobatidae) from the Colombian Andes. *Herpetologica*, 61, 395–408.
- Bokermann, W.C.A. (1966b). *Lista Anotada das Localidades-Tipo de Anfíbios Brasileiros*. São Paulo: Serviço de Documentação - RUSP. 181p.
- Calhoun, R.E. & Jameson, D.L. (1970) Canonical correlation between variation in weather and variation in size in the Pacific tree frog, *Hyla regilla* in Southern California. *Copeia*, 1, 124–134.
- Caramaschi, U. & Napoli, M.F. 2004. The nomenclatural status of the synonyms of *Hyla pardalis* Spix, 1824, and the taxonomic position of *Hyla biobeba* Bokermann and Sazima, 1974 (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology*, 38, 500–509.
- Caramaschi, U., Pimenta, B.V.S. & Feio, R.N. (2004) Nova espécie do grupo de *Hyla geographica* Spix, 1824 da Floresta Atlântica, Brasil (Amphibia, Anura, Hylidae). *Boletim do Museu Nacional. Nova Serie, Zoologia*. Rio de Janeiro 518, 1–14.
- Castellano, S. & Giacoma, C. (1998) Morphological variation of the green toad, *Bufo viridis*, in Italy: a test of causation. *Journal of Herpetology*, 32, 540–550.
- Castellano, S., Giacoma, C. & Dujsebayaeva, T. (2000) Morphometric and advertisement call geographic variation in polyploid green toads. *Biological Journal of the Linnean Society*, 70, 341–360.
- Cei, J.M. (1980) Amphibians of Argentina. *Monitore Zoologico Italiano (N. S.) Monograph*, 2, 1–609.
- Cochran, D.M. (1955) Frogs of South–Eastern Brazil. *Bulletin of the United States National Museum*, 201, 1–423.
- Cochran, D.M. & Goin, C.J. (1970) Frogs of Colombia. [Bulletin of the United States National Museum](#), 288.
- Cope, E.D. (1867) On the families of the raniform Anura. [Journal of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia](#), 6, 189–206.
- Costa, L.P., Leite, Y.R.L., Fonseca, G.A.B. & Fonseca, M.T. (2000) Biogeography of South American forest mammals: endemism and diversity in the Atlantic Forest. *Biotropica*, 32: 872–881.
- Dayrat, B. (2005) Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85, 407–415.
- D'Heursel, A. & Sá, R.O. (1999). Comparing the tadpoles of *Hyla geographica* and *Hyla semilineata*. *Journal of Herpetology* 33, 353–361.
- Duellman, W.E. (1970) The Hylid frogs of Middle America. *Natural History Museum of*

the University of Kansas, 1, 1–753.

Duellman, W.E. (1973) Frogs of the *Hyla geographica* group. *Copeia*, 1973, 515–533.

Duellman, W.E. & Trueb, L. (1986) *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill, New York, 670 pp.

Duellman, W.E. & Trueb, L. (2004) *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill Inc., New York, 670 pp.

Duméril, A.M.C & Bibron, G. (1841) *Erpétologie Générale ou Histoire Naturelle Complète des Reptiles*. Volume 8. Paris: Librairie Encyclopedique de Roret.

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

Frost, D.R. (2011) *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 5.5. (15 May, 2011). Electronic Database available from

<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>American Museum of Natural History.

New York, USA (Accessed 15 May 2011).

Funk, W.C., Angulo, A., Caldwell, J.P., Ryan, M.J. & Cannatella, D.C. (2008) Comparison of morphology and calls of two cryptic species of *Physalaemus* (Anura, Leiuperidae). *Herpetologica*, 64, 290–304.

Gerhardt, H.C. (1994) The evolution of vocalization in frogs and toads. *Annual Review Ecology and Systematics*, 25, 213–234.

Glaw, F. & Franzen, M. (2006) Type catalogue of amphibians in the Zoologische Staatssammlung München. *Spixiana*, 29: 153–192.

Hammer, Ø., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. (2001) PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4, 1–9.

Hennessy, P.A. (1968) A study of pigmentation in a hylid frog. *Hyla geographica* (Spix, 1824), with special reference to changes during ontogeny. Unpublished Ms. Thesis, University of Kansas, 1–72.

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

Heyer, W.R. (1984) Variation, systematics, and zoogeography of *Eleutherodactylus guentheri* and closely related species (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 402, 1–42.

- Heyer, W.R. (1997) Geographic variation in the frog genus *Vanzolinius* (Anura: Leptodactylidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 110, 338–365.
- Heyer, W.R., Rand, A.S., Cruz, C.A.G., Peixoto, O.L. & Nelson, C.E. (1990) Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia, São Paulo*, 31, 231–410.
- Heyer, W.R. & Reid, Y.R. (2003) Does advertisement call variation coincide with genetic variation in the genetically diverse frog taxon currently known as *Leptodactylus fuscus* (Amphibia, Leptodactylidae)? *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 75, 39–54.
- Hoogmoed, M. S. & Gruber, U. (1983) Spix and Wagler type specimens of reptiles and amphibians in the Natural History Museum in Munich (Germany) and Leiden (the Netherlands). *Spixiana*. 9, 319–415.
- Humphries, J.M., Bookstein, F.L., Chernoff, B., Smith, G.R., Elder, R.L. & Poss, S.G. (1981) Multivariate discrimination by shape in relation to size. *Systematic Zoology*, 30, 291–308.
- Huxley, J. (1938) Clines: an auxiliary taxonomic principle. *Nature*, 142, 219–220.
- ICZN (1999) *International Code of Zoological Nomenclature*. Fourth edition. The International Trust for Zoological Nomenclature. Disponível em: <http://www.iczn.org/iczn/index.jsp> (12 mar. 2011).
- James, F.C. & McCulloch, C.E. (1990) Multivariate analysis in Ecology and Systematics: panacea or Pandora's Box? *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 129–166.
- Kinzey, W.G. (1982) Distribution of primates and forest refuges. In: G.T. Prance (Ed.). *Biological diversification in the tropics*, pp. 455–482. Columbia University Press, New York, New York.
- Lehtinen, R.M., Wojtowicz, E.A. & Hailey, A. (2011) Male vocalizations, female discrimination and molecular phylogeny: multiple perspectives on the taxonomic status of a critically endangered Caribbean frog. *Journal of Zoology*, 283, 117–125.
- Lingnau, R. & Bastos, R. (2000) Vocalizações de duas espécies de anuros do Sul do Brasil (Amphibia, Hylidae). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 61, 203–207.
- Lutz, B. (1973) *Brazilian species of Hyla*. University of Texas Press, Austin & London, 260 pp.
- Marquez, R., De La Riva, I. & Bosch, J. (1993) Advertisement calls of Bolivian species of *Hyla* (Amphibia, Anura, Hylidae). *Biotropica*, 25, 426–443.
- McCune, B. & Grace, J.B. (2002) *Analysis of ecological communities*. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, USA, 300 pp.

- McGarigal, k., Cushman, S.A. & Stafford, S. (2000) Multivariate Statistics for wildlife and ecology research. *Springer Verlag*, New York, New York, USA.
- Morrison, C. & Hero, J.M. (2003) Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*, 72, 270–279.
- Müller, P. (1973) The dispersal centres of terrestrial vertebrates in the Neotropical realm: a study in the evolution of the Neotropical biota and its native landscapes. *Biogeographica*, 2. Dr W. Junk Publishers, The Hague, The Netherlands, 244pp.
- Myers C.W. & Duellman, W.E. (1982) A new species of *Hyla* from Cerro Colorado, and other tree frog records and geographical notes from Western Panama. *American Museum Novitates*, 2752, 1–32.
- Napoli, M.F. (1995) *Taxonomia das espécies de Hyla pertencentes ao grupo de H. rubicundula Reinhardt & Lütken, 1862* (Amphibia, Anura, Hylidae). Dissertação de Mestrado. Rio de Janeiro, Museu Nacional/UFRJ, xv + 287p.
- Napoli, M.F. (2005) A new species allied to *Hyla circumdata* (Anura: Hylidae) from Serra da Mantiqueira, Southeastern Brazil. *Herpetologica*, 61, 63–69.
- Napoli, M.F. & Caramaschi, U. (1998) Duas novas espécies de *Hyla Laurenti*, 1768 do Brasil central afins de *H. tritaeniata* Bokermann, 1965 (Amphibia, Anura, Hylidae). *Boletim do Museu Nacional*, Rio de Janeiro, 391, 1–12.
- Napoli, M.F. & Pimenta, B.V.S. (2009) A new species of the *Bokermannohyla circumdata* (Anura, Hylidae) from the Coastal Forests of Bahia, Northeastern Brasil. *Copeia*, 4, 674–683.
- Nevo, E. & Capranica, R.R. (1985) Evolutionary origin of ethological reproductive isolation in cricket frogs, *Acris*. *Evolutionary Biology*, 19, 147–214.
- Padial, J.M., Chaparro, J.C & De La Riva, I. (2008) Systematics of *Oreobates* and the *Eleutherodactylus discoidalis* species Group (Amphibia, Anura) based on two mtDNA genes and external morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 152, 353–365.
- Padial, J.M & De La Riva, I. (2009) Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 155, 97–122.
- Padial, J.M., Miralles, A., De La Riva, I. & Vences, M. (2010) The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7, 16.
- Parker, H.W. (1933) A list of the frogs and toads of Trinidad. *Tropical Agriculture*. Trinidad 10, 8–12.
- Peters, W.C.H. (1870) Über neue Amphien (*Hemidactylus*, *Urosaura*, *Tropidolepisma*,

- Geophis, Uriechis, Scaphiophis, Hoplocephalus, Rana, Entomoglossus, Cystignathus, Hylodes, Arthroleptis, Phyllobates, Cophomantis*) des Königlich Zoologisch Museum. *Monatsberichte der Königlichen Preussische Akademie des Wissenschaften zu Berlin* 1870, 641–652.
- Peters, W.C.H. (1873) "1872". Über eine, zwei neue Gattungen enthaltende, Sammlung von Batrachiern des Hrn. Dr. O. Wucherer aus Bahia, so wie über einiger neue oder weniger bekannte Saurier. *Monatsberichte der Königlichen Preussische Akademie des Wissenschaften zu Berlin* 1872: 768–772.
- Pyburn, W.F. (1977) A new hylid frog (Amphibia, Anura, Hylidae) from the Vaupés River of Colombia with comments on related species. *Journal of Herpetology* 11, 405–410.
- Reinhardt, J.T., & LÜTKEN, C.F. (1862) "1861". Bidrag til Kundskab om Brasiliens Padder og Krybdyr. Første Afdeling: Padderne og Öglerne. *Videnskabelige Meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening i Kjøbenhavn*, 3, 143–242.
- Reis, S.F., Pessoa, L.M. & Strauss, R.E. (1990). Application of size-free canonical discriminant analysis to studies of geographic differentiation. *Revista Brasileira de Genética*, 13, 509–520.
- Ron, S.R., Cannatella, D.C. & Coloma, L.A. (2004) Two new species of *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) from western Ecuador. *Herpetologica*, 60, 261–275.
- Ron, S.R., Coloma, L.A. & Cannatella, D.C. (2005) A new, cryptic species of *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) from western Ecuador with comments on the call structure of *P. pustulosus* species group. *Herpetologica*, 61, 178–198.
- Ron, S.R., Santos, J.C. & Cannatella, D.C. (2006) Phylogeny of túngara frog genus *Engystomops* (= *Physalaemus pustulosus* species group; Anura, Leptodactylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39, 392–403.
- Rohlf, F.J. & Slice, D.E. (1990) Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39, 40–59.
- Ryan, M.J. (1988) Constraints and Patterns in the evolution of anuran acoustic communication. In: Fritsch, B., Ryan, M.J., Wilczynski, W., Hetherington, T.E. & Walkiwiak, W. (Eds.), *The evolution of the Amphibian auditory System*. John Wiley, New York, pp. 637–677.
- Ryan M.J. & Wilczynski, W. (1991) Evolution of intraspecific variation in the advertisement call of a cricket frog (*Acris crepitans*, Hylidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 44, 249–271.
- Savage, J.M. & Heyer, W.R. (1967) Variation and distribution in the tree-frog genus

Phyllomedusa in Costa Rica, Central America. *Beiträge zur Neotropischen Fauna*, 5, 111–131.

Schäuble, C.S. (2004) Variation in body size and sexual dimorphism across geographical and environmental space in the frogs *Lymnodynastes tasmaniensis* and *L. peronii*.

Biological Journal of the Linnean Society, 82, 39–56.

Silveira, S.R. & Caramaschi, U. (1989) Revalidação de *Hyla semilineata* Spix, 1824 (Anura, Hylidae), *Resumos XVI Congresso Brasileiro de Zoologia*, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba.

StatSoft, Inc. (2004) Statistica (data analysis software system), versão 8.0.

Wilczynski, W. & Ryan, M.J. (1999) Geographic Variation in Animal Communication Systems. In: Foster, S.A. & Endler, J.A. (Eds), *Geographic Variation in Behavior*. Oxford University Press. New York, New York, USA. pp. 234–261.

Will, K.W., Mishler, B.D. & Wheeler, Q.D. (2005) The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. *Systematic Biology*, 54, 844–851.

Wright, S. (1943) Isolation by distance. *Genetics*, 28, 114–138.

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

Lista de Legendas

Figura 1. *Mean Plot* dos escores individuais do primeiro componente principal obtido dos dados morfométricos das populações da Floresta Atlântica sem correção para o fator tamanho contra o gradiente latitudinal.

Figura 2. Projeção dos escores individuais oriundos da análise dos componentes principais (PCA) de 15 variáveis morfométricas, sem correção do tamanho, obtidas de machos adultos das populações da Floresta Atlântica de 96 localidades (variável dependente) contra gradiente latitudinal (variável independente).

Figura 3. Projeção dos escores individuais no espaço reduzido dos principais componentes (PC1 vs. PC2) extraídos dos dados morfométricos referentes às unidades taxonômicas operacionais estabelecidas para as populações da Floresta Atlântica, sem correção para o fator tamanho.

Figura 4. Variação na angulação da mandíbula observada em relação ao eixo do corpo. À esquerda, indivíduo da UTO B e à direita, indivíduo da UTO A.

Figura 5. Projeção dos escores individuais oriundos da análise dos componentes principais (PCA) de 15 variáveis morfométricas, sem o efeito do tamanho, obtidas de machos adultos das populações da Floresta Atlântica de 96 localidades (variável dependente) contra gradiente latitudinal (variável independente).

Figura 6. Projeção dos escores individuais no espaço reduzido dos componentes principais (PC1 vs. PC2) oriundos de seis variáveis acústicas, obtidas das vocalizações de anúncio de populações de sete localidades da Floresta Atlântica, reunidas em duas unidades taxonômicas operacionais.

Figura 7. Padrões de colorido observado para as populações da Floresta Atlântica e suas frequências entre as UTOS: A. Padrão da superfície ventral (com manchas ou sem manchas), B. superfície interna da coxa (Zero: sem marcas, 1A: com barras bifurcadas, 1B: com barras não bifurcadas, 2: irregulares), C. Mancha dorsal (com manchas e sem manchas), D. Linha mediana dorsal (Sem: sem linha, 1A: com linha até a região

interorbital, 1B: com linha até o meio do corpo, 1C: com linha até o final do corpo), E. Superfície dorsal da coxa (sem: sem marcas, 1A: com barras grossas, 1B: com barras finas), F. Superfície dorsal da tíbia (sem: sem marcas, 1A: com barras grossas, 1B: com barras finas), G. Superfície do flanco (Um: com textura granulada, Dois: com linhas/traços, Um/Dois: com padrão misto dos padrões anteriores, Três: padrão onçado), H. Mancha pós-orbital (sem mancha e com mancha), I. X-dorsal (sem e com), J. Faixa transversal sacral (sem e com).

Figura 8. Projeção dos escores individuais no espaço reduzido dos eixos discriminantes de maior representatividade (CV1 vs. CV2), extraídos dos dados morfométricos referentes às unidades taxonômicas operacionais estabelecidas para as populações da Floresta Atlântica, sem correção do tamanho.

Figura 9. Projeção dos escores individuais no espaço reduzido dos principais eixos discriminantes (CV1 vs. CV2) extraídos das variáveis morfométricas das populações da Floresta Atlântica, sem efeito do tamanho.

Figura 10. Desenho esquemático do exemplar topotípico utilizado na redefinição da espécie.

Figura 11. Mapa com a distribuição geográfica das amostras das populações da Floresta Atlântica (reunidas em unidades taxonômicas operacionais) e da Floresta Amazônica examinadas neste trabalho.

APÊNDICE 1

Material Examinado

Hypsiboas boans. BRASIL: **AMAPÁ**: Oiapoque (MZUSP 112984); Serra do Navio (MZUSP 112982 – 112983, 112986); Rio Maracá – Camaípe (MZUSP 100034 – 100035, 100037). **AMAZONAS**: Manaus (CFBH 5578; MZUSP 76954 – 76957); Boca do Tucano (MZUSP 112985); São João (MZUSP 37500 – 37504). **MARANHÃO**: Sambaíba (CFBH 12568). **PARÁ**: Dom Eliseu (CFBH 20325); Lago Jacaré, Rio Trombetas (MZUSP 33302 – 33303); Serra de Kukoinhokren (MZUSP 69882). **RORAIMA**: Colônia Apiiau (MZUSP 65925); Serra do Tepequém (MZUSP 70705, 140612). EQUADOR: **PROVÍNCIA DE NAPO**: Loreto (MZUSP 106760, 101279, 112988 – 112989). **PROVÍNCIA DE PASTAZA**: Chichirata (MZUSP 112980).

Hypsiboas geographicus. BRASIL: **ACRE**: Rio Muru (MZUSP 112453 – 112453); Rio Branco (MNRJ 14334); Tarauacá (MZUSP 112455). **AMAZONAS**: Bacia Urucu (MNRJ 37367 – 37368, 37370); Cariri (MNRJ 56689 – 56690, 56692); Lindoia (MNRJ 56649); Manaus (MZUSP 67897, 67899 – 67900; MNRJ 36291); Rio Maicuru (MNRJ 33458); Urucará (MNRJ 63563 - 63570). **GOIÁS**: “Prope Brasília (MNRJ 14357); **MARANHÃO**: Estreito (CFBH 9166, 9168 – 9169); **MATO GROSSO**: Cuiabá (CFBH 99 – 0100); Paranaíta (CFBH 20097 – 20102); Poconé (CFBH 212); Porto Esperidião (MNRJ 14342). **PARÁ**: Aramã (MNRJ 48127, 48130, 48132, 48134 – 48135); Belém (MPEG 9281 – 9282, 9285, 9287, 9295, 25662 – 25664, 20069 – 20079, 25669 – 25670, 26665; MNRJ 64070); Canaã (CFBH 3647); Óbidos (MNRJ 31656); Oriximiná (MNRJ 52817 – 52818, 52877 – 52881, 56650); Rio Paru (fronteira com Suriname) (MNRJ 31297); Serra de Kukoinhokren (MZUSP 70144 – 70149); Terra Santa (MNRJ 54607, 63894 - 63895); Tucuruí (MZUSP 97594, 98124 – 98127); Xinguara (54322). **RONDÔNIA**: Espigão d'Oeste (CFBH 5104 – 5105); Ouro Preto d'Oeste (MNRJ 14349, 14353). TRINIDAD E TOBAGO: Port of Spain (MNRJ 335333- 33537). **TOCANTINS**: Aragominas (MNRJ 60278 – 60279).

Hypsiboas pombali. BRASIL: **BAHIA**: Una/Ilhéus (CFBH 13270 – 23273), Salvador (CFBH 13268 – 13269), Uruçuca (CFBH 13267). **ESPÍRITO SANTO**: Sooretama (CFBH 14914 – 14917). (CFBH 19452).

Hypsiboas semilineatus: **ALAGOAS**: Campo Alegre (CFBH 16330 – 16331, 16356, 22979), Coruripe (MNRJ 38140), Murici (MNRJ 97421). **BAHIA**: Aurelino Leal (CFBH 18768), Boa Nova (MZUESC 7446), Camacan (MZUFBA 9228), Camaçari (MZUFBA 458), Caravelas (MNRJ 33551 – 33552), Ibirapitanga (MZUFBA 9655, 9909 – 9910), Ilhéus (MNRJ 1535), Itacaré (MZUFBA 10001 – 10002), Itamaraju (MZUESC 7836), Ituberá (MZUFBA 3120 – 3123), Mata de São João (MZUFBA 2640 – 2652, 2741 – 2745, 2747 – 2753, 3884 – 3885, 3892, 3896, 4250 – 4254, 4392, 4614), Mucuri (CFBH 1990), Prado (MZUESC 7628), Porto Seguro (MZUESC 7645, 7668, 9912; MNRJ 28878; MZUSP 127748 – 127768, 127770), Pratigi (MZUFBA 3930), Salvador (MZUFBA 7381), Trancoso (MNRJ 47843 – 47844), Una (CFBH 13013, 13015 – 13018; 13270 – 13273; MNRJ 29777 – 29778), Uruçuca (MZUFBA 8268; CFBH 13000; 13267), Valença (MNRJ 14365, 36955). **ESPÍRITO SANTO**: Cachoeiro do Itapemirim (CFBH 4071), Cariacica (CFBH 884 – 885; MZUSP 135153; MNRJ 27861 – 27863), Conceição da Barra (CFBH 1930 – 1932, 1934, 2391, 2426; MZUFV 3197, 3199, 3201 – 3204), Domingos Martins (CFBH 11249, 11333, 11335), Guarapari (MNRJ 14381, 14383, 14385), Linhares (CFBH 9969; MNRJ 14387 – 14388), Mimoso do Sul (CFBH 11089 – 11096, 11098), Piúma (MZUSP 135157), São Mateus (CFBH 1519), Sooretama (CFBH 14918), Santa Teresa (CFBH 11250 – 11251, 11253 – 11254, 11336 – 11337, 11344; MNRJ 40669 – 40671), Viana (MZUSP 135143 – 135144). **MINAS GERAIS**: Belmiro Braga (MNRJ 27550), Cataguases (MZUFV 4241), Juiz de Fora (MNRJ 14375, 14377 – 14380; MNRJ 35411), Ladainha (XXX 5149 – 5152), Mar de Espanha (XXX 14386), Marliéria (MZUFV 342, 345 – 346, 350, 353 – 354), Mariana (MZUSP 137926 – 137927), Nepomuceno (MNRJ 23322 – 23328, 23330, 23332 – 23333), Ponte Nova (MZUFV 1153 – 1156), Poté (MZUFV 5656 – 5657, 5830), Teófilo Otoni (CFBH 11475 – 11480, 11569). **PERNAMBUCO**: Igarassu (CFBH 2548). **PARANÁ**: Antonina (MZUSP 65303), Guaratuba (CFBH 3047, 3165), Morretes (MNRJ 29763 – 29764; MZUSP 65304 – 65305). **RIO DE JANEIRO**: Bom Jesus do Itabapoana (MNRJ 51477), Campos (MNRJ 23148 – 23149), Casimiro de Abreu (MNRJ 42495), Comendador Levy Gasparian (MNRJ 51057), Duque de Caxias (MNRJ 5423 – 5425, 16739, 71619, 71621), Engenheiro Paulo Frontin (MNRJ 21694 – 21695, 21697 – 21700, 21713 – 21714, 29816, 36283 – 36286), Guapimirim (MNRJ 40738), Itapitangas (MNRJ 51273, 51275), Macaé (MNRJ 47342, 47344, 47346, 47351), Magé (MNRJ 56133), Maricá (MNRJ 57015 – 57017), Niterói (MNRJ 26899), Palmital (MNRJ 30176 – 30178), Petrópolis (MNRJ 23126, 23128,

23130, 23132, 23143 – 23144, 23147, 23150, 31398, 32733, 33517, 33706, 38713, 52195), Rio das Ostras (MNRJ 37335 – 37336, 37338), São Francisco de Itabapoana (MNRJ 53343 – 53344, 53347), Santa Maria Madalena (MNRJ 53332 – 53336, 53338 – 53341). **SANTA CATARINA:** Brusque (MNRJ 14343, 14345), Corupá (MZUSP 786; CFBH 3048), Guara-mirim (MNRJ 1978), Itapema (CFBH 8459), Jaraguá do Sul (MZUSP 137266), Rio Vermelho (MZUSP 112438 – 112439, 112468), São Bento do Sul (MZUSP 112440 – 112441). **SERGIPE:** Indiaroba (MNRJ 38912), Itaporanga (MNRJ 49747 – 49753). **SÃO PAULO:** Barra do Una (MZUSP 137376), Bertiooga (CFBH 10524 – 10533; MZUSP 112446 – 112447, 112449, 138919 – 138920, 138926 – 138929), Cananeia (CFBH 10875), Cubatão (CFBH 13580; MZUSP 135869), Eldorado (CFBH 10652 – 10661), Iguape (CFBH 841; MZUSP 894), Iporanga (CFBH 14584; MZUSP 139434 – 139436), Itanhaém (CFBH 12221), Itariri (CFBH 10631 – 10636), Itatins (CFBH 23696), Miracatu (MZUSP 117793 – 117796), Mococa (CFBH 12144), P.E. Jacupiranga (MZUSP 120353), Peruíbe (CFBH 23878, 23887, 23890; MZUSP 58918), PETAR (MZUSP 139230), Piaçaguera (MZUSP 76; MNRJ 3666, 30588; MZUSP 76447, 112459 – 112463, 112473 – 112476, 120349 – 120352), Piedade (CFBH 23267), Pindamonhangaba (CFBH 6283 – 6284, 9397 – 9400, 14631, 14634, 14636, 14639 – 14640, 14644 – 14645), Serra do Japi (MZUSP 75660), Santos (CFBH 12262, 23916), Serra do Mar (MNRJ 2894), Ubatuba (CFBH 587, 1163 – 1166, 10605 – 10606, 10615, 11647; MZUSP 139387).

Hypsiboas wavrini. **BRASIL: AMAZONAS:** Anavilhanas (MZUSP 60342); Rio Cuieiras (MZUSP 53626). **MARANHÃO:** Estreito (CFBH 18035); Sambaíba (MNRJ 42083). **PARÁ:** Porto Trombetas (MNRJ 48453). **TOCANTINS:** Aguiarnópolis (CFBH 9210).

Lista de Figuras

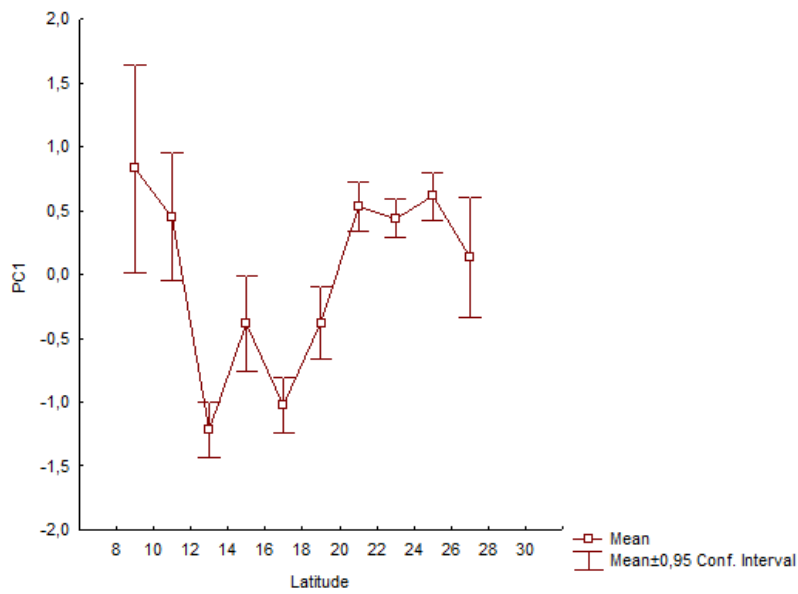


Figura 1.

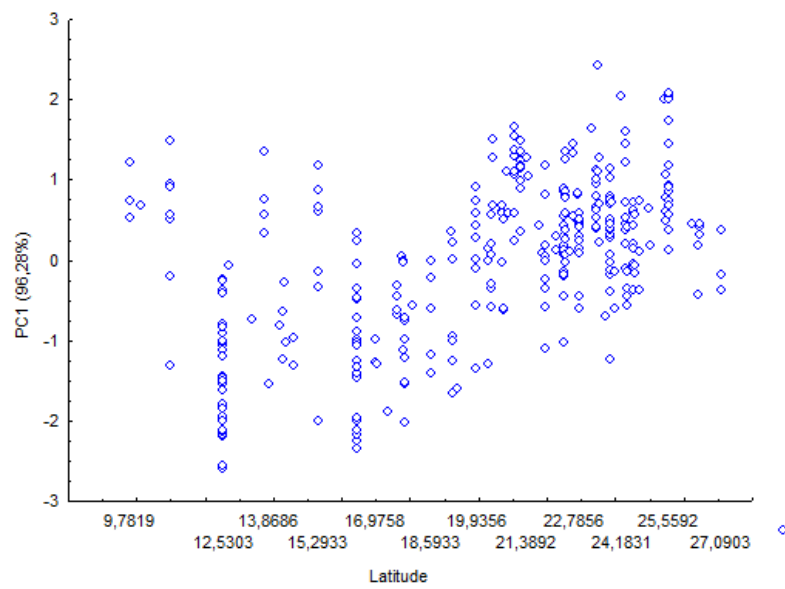


Figura 2.

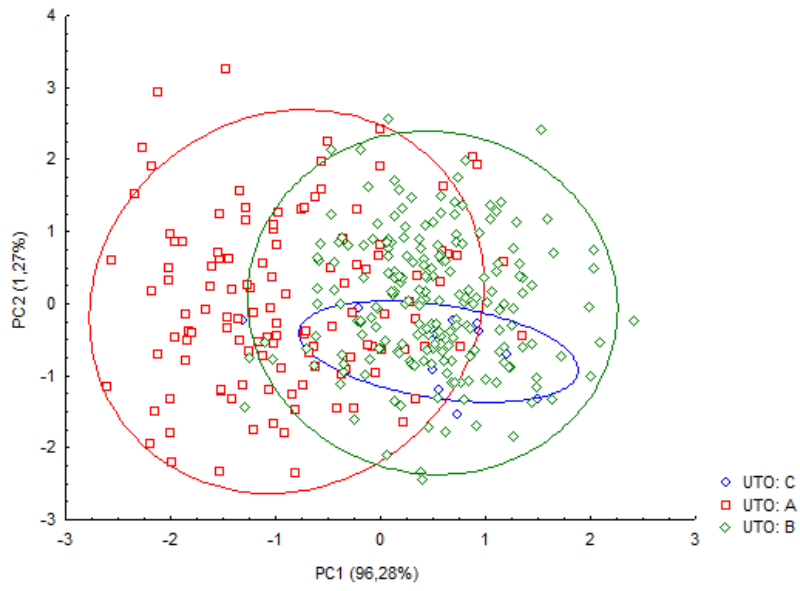


Figura 3.

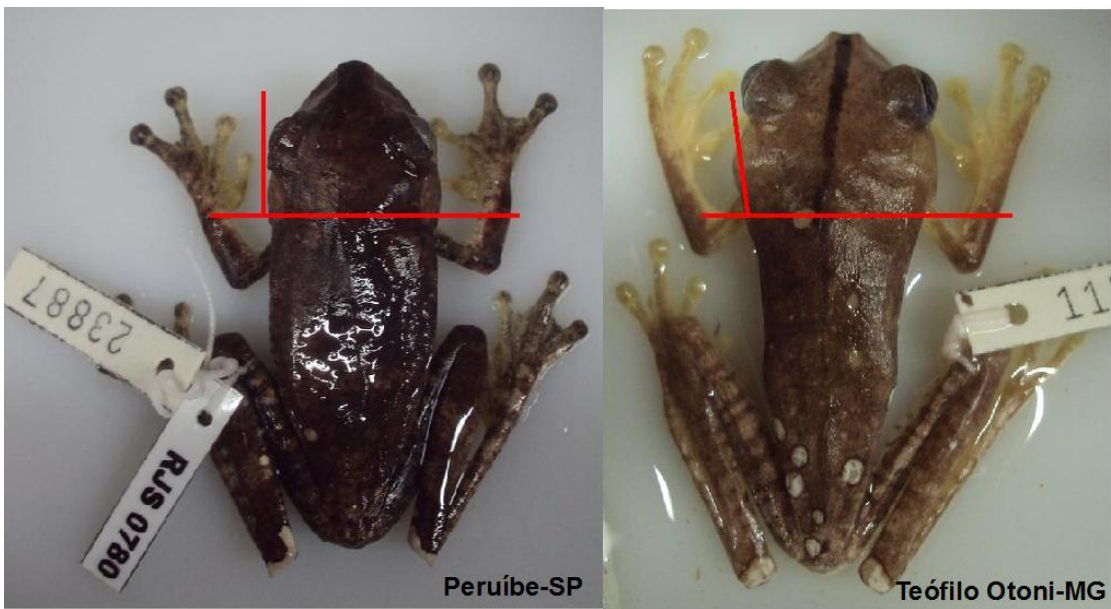


Figura 4.

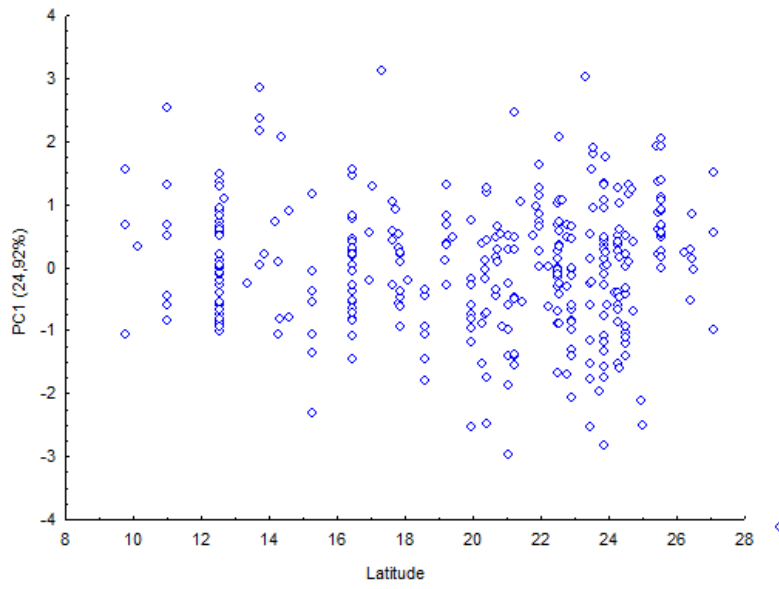


Figura 5.

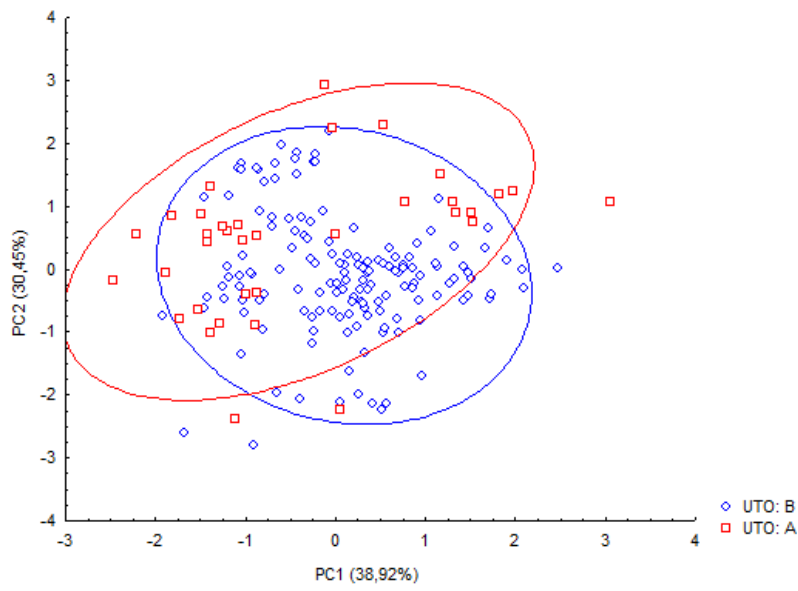


Figura 6.

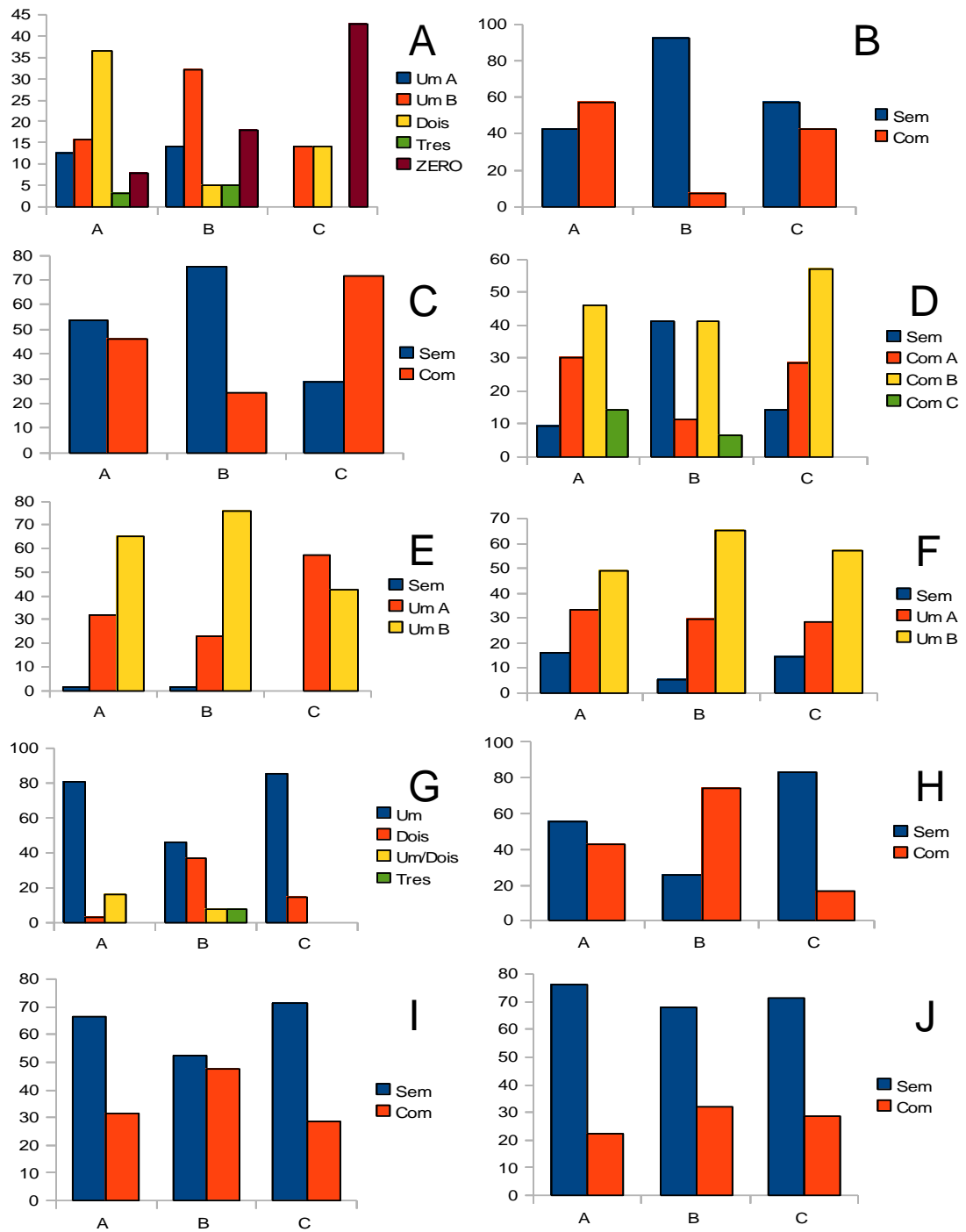


Figura 7.

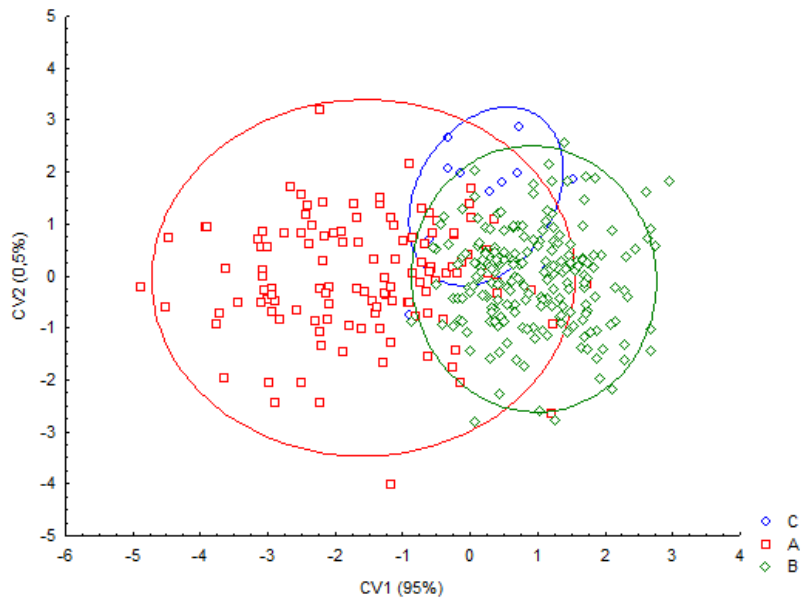


Figura 8.

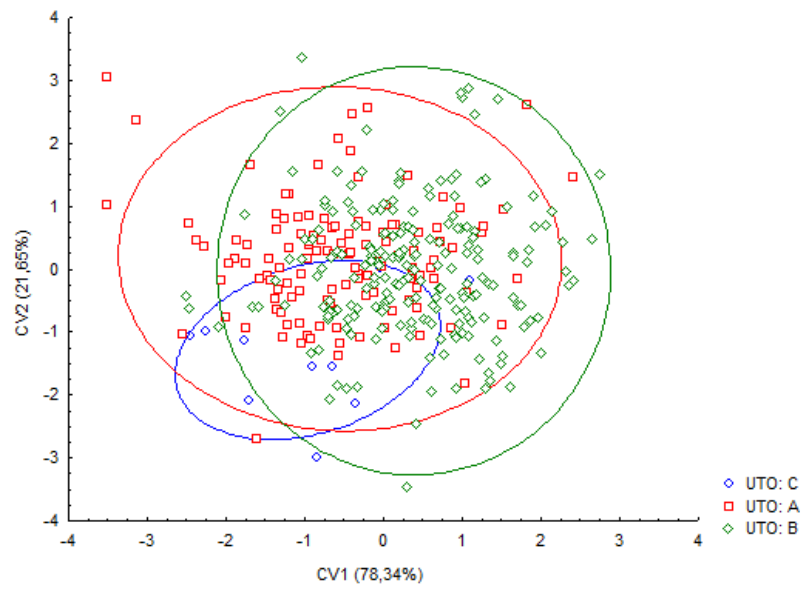


Figura 9.

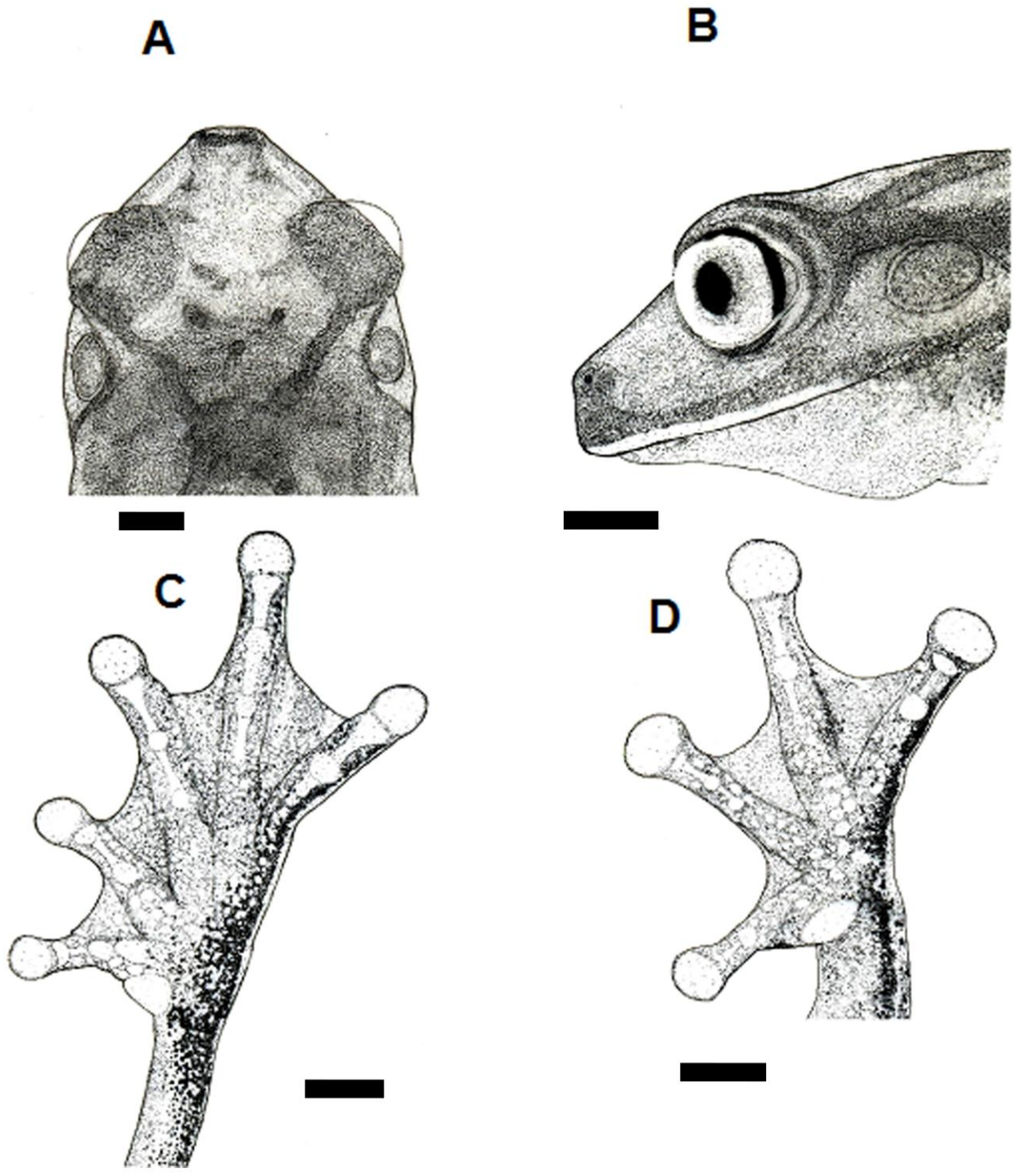


Figura 10.

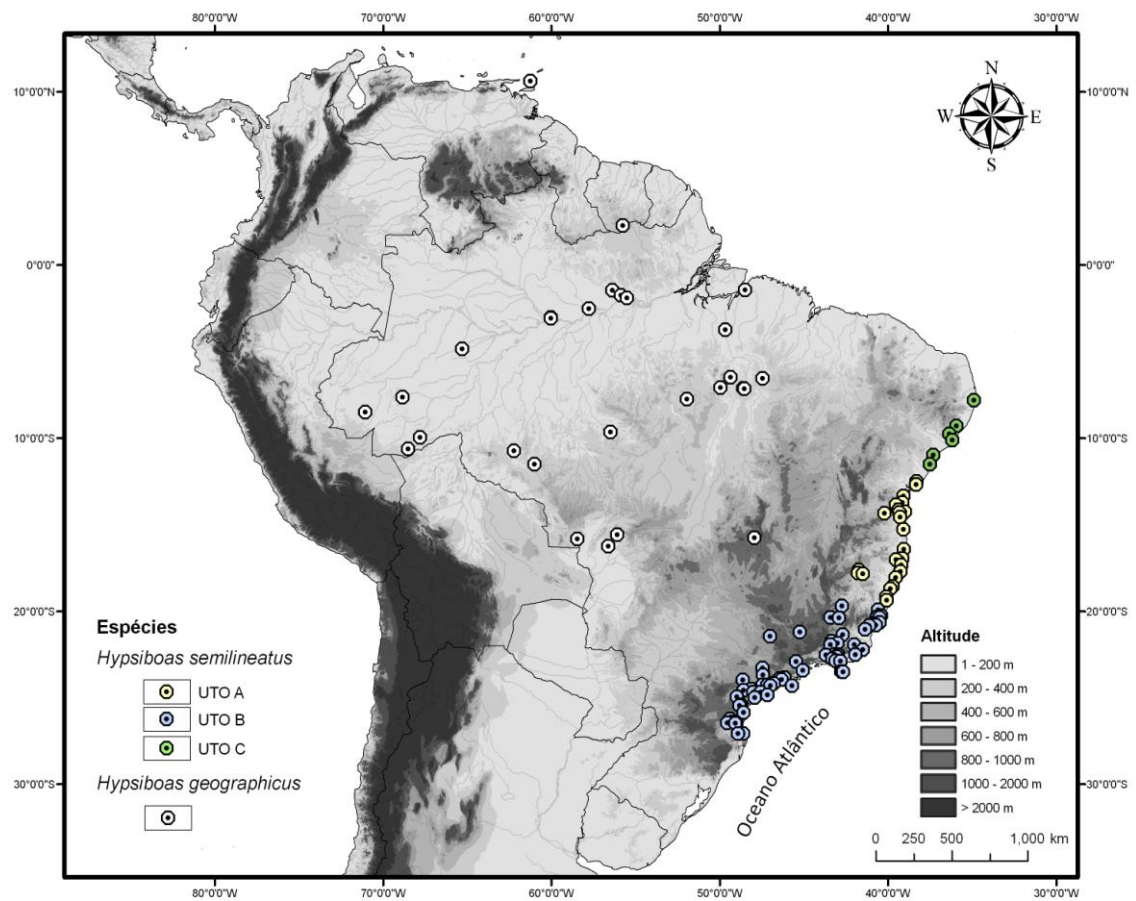


Figura 11.

Tabelas.

Tabela 1. *Loadings* derivados das análises dos componentes principais (PCA) e análise das variáveis canônicas (AVC) de 15 variáveis morfométricas de machos adultos de populações da Floresta Atlântica referidas à *Hypsiboas semilineatus*. Os termos corrigido e não corrigido se referem à remoção matemática do efeito do tamanho sobre as variáveis originais. Valores em negrito são significativos para $P < 0,05$.

Floresta Atlântica					
Não Corrigido		Corrigido			
	PC1	PC1	PC2	CV1	CV2
CRC	-0,99	-0,35	-0,04	-0,12	-0,26
CC	-0,97	-0,08	-0,21	0,37	-0,07
LC	-0,98	-0,29	-0,07	0,18	-0,17
DO	-0,75	-0,31	-0,11	-0,11	0,44
DON	-0,93	-0,27	-0,29	0,37	0,10
DT	-0,87	-0,46	-0,17	-0,13	0,45
LPS	-0,73	-0,14	-0,27	0,28	0,09
DIO	-0,87	-0,12	-0,10	0,01	0,01
DIN	-0,63	-0,25	-0,59	0,17	0,19
DNF	-0,65	0,96	-0,26	-0,06	0,52
CCX	-0,98	-0,25	-0,13	0,25	-0,37
CTB	-0,98	-0,15	-0,09	-0,34	-0,29
CPE	-0,99	-0,22	0,06	0,60	0,01
DD3D	-0,82	0,03	0,80	-0,47	-0,11
DD4A	-0,82	0,15	0,83	-	-
Autovalores	89,10	0,00	0,00	0,23	0,06
% Variância	96,29	24,92	21,18	78,34	21,65

Tabela 2. *Loadings* derivados da análise dos componentes principais (PCA) de 06 variáveis acústicas obtidas das vocalizações de anúncio de espécimes das populações da Floresta Atlântica referidas à *Hypsiboas semilineatus*. Legenda: **N Pul** = número de pulsos, **D Nt** = duração das notas, **TRP** = taxa de repetição de pulsos, **N Nt** = número de notas, **TRN** = taxa de repetição das notas e **F Do** = frequência dominante do canto. Valores em negrito são significativos para $P < 0,05$.

Variáveis	Floresta Atlântica	
	PC1	PC2
N Pul	0,96	-0,05
D Nt	0,04	0,98
TRP	0,95	0,17
N Nt	0,47	0,17
TRN	-0,08	-0,97
F Do	0,32	-0,21
Autovalores	2,33	1,82
% Variância	38,93	30,46

Conclusões Finais

As populações da Floresta Atlântica referidas à *Hypsiboas semilineatus* apresentaram semelhança acentuada tanto nos parâmetros morfológicos quanto nos acústicos, no entanto, as estatísticas inferenciais utilizadas no exame dessa espécie revelaram diferenças significantes entre as Unidades Taxonômicas Operacionais proposta neste trabalho. Embora a maioria dos parâmetros analisados tenha variado em clines geográficos, podendo sugerir a manutenção de fluxo gênico entre as populações, a semelhança entre os indivíduos da UTO A e espécimes da Floresta Amazônica referidos à *Hypsiboas geographicus* e a diferença entre estes e os indivíduos da UTO B nos leva a admitir que as populações da Floresta Atlântica, ora tratadas como *Hypsiboas semilineatus*, compõem mais de uma linhagem.

Assim sendo, diante das linhas de evidências utilizadas nos concluímos que as populações da Floresta Atlântica referidas à *Hypsiboas semilineatus* compreendidas desde o Estado de Pernambuco até o Norte do Espírito Santo, acima do Rio Doce deveriam ser sinonimizadas com *Hypsiboas geographicus*, enquanto aquelas abaixo do Rio Doce até o Estado de Santa Catarina devem permanecer com àquela nomenclatura até que outros estudos mais abrangentes acrescentem mais informações de fontes tão diversas quanto os estudos moleculares, fisiológicos, comportamentais e morfológicos.

Considerando os resultados obtidos e apoiados pelos princípios da taxonomia integrativa, podemos aceitar a hipótese que existe mais de uma linhagem referida como *Hypsiboas semilineatus* na Mata Atlântica brasileira e a de que *Hypsiboas semilineatus* e *Hypsiboas geographicus* representam linhagens distintas.

Referências Bibliográficas

AZEVEDO-RAMOS, C., LA MARCA, E., COLOMA, L.A., RON, S. & HARDY, J. 2010. *Hypsiboas geographicus*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on **17 Ago 2011**.

BOKERMANN, W. C. A. **Lista anotada das localidades tipo de anfíbios brasileiros**. São Paulo: Serviço de Documentação - RUSP, 1966. 183 p.

COPE, E.D. (1867) On the families of the raniform Anura. [Journal of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia](#), 6, 189–206.

MARQUEZ, R., DE LA RIVA, I. & BOSCH, J. (1993) Advertisement calls of Bolivian species of *Hyla* (Amphibia, Anura, Hylidae). *Biotropica*, 25, 426–443.

D'HEURSEL, A. & SÁ. R.O. (1999). Comparing the tadpoles of *Hyla geografica* and *Hyla semilineata*. *Journal of Herpetology* 33, 353–361.

DUELLMAN, W.E. (1973) Frogs of the *Hyla geografica* group. *Copeia*, 1973, 515–533.

SBH, **Sociedade Brasileira de Herpetologia**. Disponível em : www.sbh.org.br Acesso em 15 mai 2011.

FAIVOVICH, J., HADDAD, C.F.B., GARCIA, P.C.A., FROST, D.R., CAMPBELL, J.A. & WHEELER, W.C. (2005) Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 294, 1–240.

FROST, D. R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference**. Version 5.5 (31 January, 2011), New York, 2011. Disponível em: <<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>>. Acesso em: 10 mar. 2011.

FUNK, W.C., ANGULO, A., CALDWELL, J.P., RYAN, M.J. & CANNATELLA, D.C. Comparison of morphology and calls of two cryptic species of *Physalaemus* (Anura, Leiuperidae). **Herpetologica**, 64, 290–304, 2008.

HEYER, W. R.; REID, Y. R. Does advertisement call variation coincide with genetic variation in the genetically diverse frog taxon currently known as *Leptodactylus fuscus* (Amphibia: Leptodactylidae)? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, n. 1, p. 39-54, 2003.

PETERS, W.C.H. (1870) Über neue Amphien (Hemidactylus, Urosaura, Tropdolepisma, Geophis, Uriechis, Scaphiophis, Hoplocephalus, Rana, Entomoglossus, Cystignathus, Arthroleptis, Phyllobates, Cophomantis) des Königlich Zoologisch Museum. Monatsberichte der Königlich Preussische Akademie des Wissenschaften zu Berlin. 1870: 641–652.

PETERS, W.C.H. (1873) "1872". Über eine, zwei neue Gattungen enthaltende, Sammlung von Batrachiern des Hrn. Dr. O. Wucherer aus Bahia, so wie über einiger neue oder weniger bekannte Saurier. Monatsberichte der Königlich Preussische Akademie des Wissenschaften zu Berlin 1872: 768–772.

REINHARDT, J.T. & LÜTKEN, C.F. (1862) "1861". Bidrag til Kundskab om Brasiliens Padder og Krybdyr. Første Afdeling: Padderne og Öglerne. Videnskabelige Meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening i Kjøbenhavn, 3, 143–242.

SILVEIRA, M & CARAMASCHI, U. Revalidação de *Hyla semilineata* Spix, 1824 (Anura, Hylidae), Resumos XVI Congresso Brasileiro de Zoologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba.

SPIX, J. B. Animalia Nova sive Species Novae Testudinum et Ranarum, quas in Itinere per Brasiliam Annis 1817-1820 Jussu et Auspiciis Maximiliani Josephi I. Bavariae Regis. Munique: Typis Franc. Seraph. Hübschmanni, 1824. 53 p.

VAN SLUYS, M. & ROCHA, C.F. 2010. *Hypsiboas semilineatus*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on **17 Ago 2011**.

WIENS, J.J., KUCZYNSKI, C.A, HUA, X. & MOEN, D.S. (2010) An expanded phylogeny of treefrogs (Hylidae) based on nuclear and mitochondrial sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 35, 871–882.